

Janina Richartz

Akute-Phase-Proteine als diagnostische
Parameter im Rahmen des Patientenmonitorings
nach Herzkatheterintervention bei Hunden
mit Pulmonalstenose bzw. persistierendem
Ductus arteriosus Botalli



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei den Autoren dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2016

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1st Edition 2016

© 2016 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin, klinische Pathophysiologie und
klinische Laboratoriumsdiagnostik
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Andreas Moritz

**Akute-Phase-Proteine als diagnostische Parameter im Rahmen des
Patientenmonitorings nach Herzkatheterintervention bei Hunden mit
Pulmonalstenose bzw. persistierendem Ductus arteriosus Botalli**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von

Janina Richartz

Tierärztin aus Bad Ems

Gießen 2016

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

Gutacher Prof. Dr. Andreas Moritz

Prof. Dr. Joachim Roth

Tag der Disputation: 24.10.2016

Meinen Eltern

Ich erkläre:

„Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Janina Richartz

Gießen 2016

INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	A
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 Akute-Phase-Reaktion	3
2.1.1 Definition	3
2.1.2 Lokale Entzündungsreaktion	3
2.1.3 Systemische Entzündungsreaktion	4
2.1.4 Regulation	6
2.1.4.1 Zytokine	6
2.1.4.2 Transkriptionsfaktoren und Akute-Phase-Protein-Gene	9
2.1.4.3 Andere für die Akute-Phase-Reaktion relevante Moleküle	9
2.2 Hauptmerkmale der Akute-Phase-Reaktion	10
2.2.1 Fieber	10
2.2.2 Leukozytose	11
2.2.3 Akute-Phase-Proteine	13
2.2.3.1 C-reaktives Protein	16
2.2.3.2 Haptoglobin	24
2.2.3.3 α 1-saures-Glykoprotein	28
2.2.3.4 Weitere Akute-Phase-Proteine	32
2.3 Einsatz von Akute-Phase-Proteinen beim Hund	39
2.4 Einsatz von Akute-Phase-Proteinen in der Humanmedizin	48
2.5 Herzerkrankungen beim Hund	50
2.5.1 Kongenitale Herzerkrankungen	50
2.5.1.1 Persistierender Ductus arteriosus Botalli	51
2.5.1.2 Pulmonalstenose	54
2.5.2 Entzündungsmarker und kanine Herzerkrankungen	57
2.6 Hintergrund und Fragestellung der wissenschaftlichen Arbeit	60

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	61
3.1 Material und Methoden	61
3.1.1 Patienten	61
3.1.2 Methodik	61
3.1.2.1 Untersuchungszeitpunkte	61
3.1.2.2 Probenentnahme und Probenaufbereitung	63
3.1.3 Vorversuche	64
3.1.3.1 C-reaktives Protein	64
3.1.3.1.1 Lagerungsversuch	64
3.1.3.1.2 Referenzwerte	64
3.1.3.2 Haptoglobin	65
3.1.3.2.1 Wiederholbarkeit/Präzision	65
3.1.3.2.2 Referenzwerte	65
3.1.3.2.3 Linearität	65
3.1.3.3 α 1-saures-Glykoprotein	65
3.1.3.3.1 Wiederholbarkeit/Präzision	65
3.1.3.3.2 Referenzwerte	65
3.1.4 Untersuchte Parameter	66
3.1.4.1 Anamnese	66
3.1.4.2 Klinische Untersuchung	66
3.1.4.3 Beurteilung Punktionsstelle	66
3.1.4.4 C-reaktives Protein	67
3.1.4.5 Haptoglobin	67
3.1.4.6 α 1-saures-Glykoprotein	68
3.1.4.7 Hämatologie	68
3.1.4.8 Klinische Chemie bzw. Totalprotein und Albumin	69
3.1.5 Katheterintervention	70
3.1.6 Komplikationen	71
3.1.7 Statistische Auswertung	71

3.2 Ergebnisse	72
3.2.1 Patienten	72
3.2.1.1 Rassen	72
3.2.1.2 Alter	72
3.2.1.3 Geschlecht	72
3.2.1.4 Gewicht	72
3.2.1.5 Anamnese, Vorbehandlung	72
3.2.1.6 Klinische Untersuchung bei Erstvorstellung (außer Vitalparameter)	73
3.2.1.7 Sonstiges	74
3.2.2 Katheterintervention	74
3.2.3 Ergebnisse der klinischen Untersuchung	75
3.2.3.1 Allgemeine klinische Untersuchung	75
3.2.3.1.1 Puls	75
3.2.3.1.2 Atmung	77
3.2.3.1.3 Körperinnentemperatur	77
3.2.3.2 Punktionsstelle und sonstiger klinischer Verlauf	79
3.2.4 Labordiagnostische Parameter	80
3.2.4.1 Vorversuche	80
3.2.4.1.1 C-reaktives Protein	80
3.2.4.1.1.1 Lagerungsversuch	80
3.2.4.1.1.2 Referenzwerte	81
3.2.4.1.2 Haptoglobin	81
3.2.4.1.2.1 Wiederholbarkeit/Präzision	81
3.2.4.1.2.2 Referenzwerte	81
3.2.4.1.2.3 Linearität	81
3.2.4.1.3 α 1-saures-Glykoprotein	82
3.2.4.1.3.1 Wiederholbarkeit/Präzision	82
3.2.4.1.3.2 Referenzwerte	82
3.2.4.2 Akute-Phase-Proteine	82
3.2.4.2.1 C-reaktives Protein	82

3.2.4.2.2 Haptoglobin	84
3.2.4.2.3 α 1-saures-Glykoprotein	86
3.2.4.3 Hämatologie	88
3.2.4.3.1 Leukozyten	88
3.2.4.3.2 Neutrophile Granulozyten	90
3.2.4.3.3 Lymphozyten	92
3.2.4.3.4 Hämatokrit	94
3.2.4.4 Klinische Chemie	96
3.2.4.4.1 Parameter, die zu allen Zeitpunkten bestimmt wurden	96
3.2.4.4.1.1 Totalprotein	96
3.2.4.4.1.2 Albumin	98
3.2.4.4.2 Parameter, die zu ausgewählten Zeitpunkten bestimmt wurden	100
3.2.4.4.2.1 Globulin	100
3.2.4.4.2.2 Ergebnisse des manuellen Blutbildes	102
4 DISKUSSION	103
4.1 Diskussion der Methoden	103
4.1.1 Akute-Phase-Proteine allgemein	103
4.1.2 C-reaktives Protein	104
4.1.3 Haptoglobin	106
4.1.4 α 1-saures-Glykoprotein	107
4.1.5 Hämatologie und klinische Chemie	107
4.2 Diskussion der Ergebnisse	108
4.2.1 Patienten	108
4.2.1.1 Rassen	108
4.2.1.2 Alter	109
4.2.1.3 Geschlecht	110
4.2.1.4 Gewicht	110
4.2.1.5 Anamnese/Vorbehandlung	111
4.2.1.6 Klinische Untersuchung bei Erstvorstellung (außer Vitalparamter)	112
4.2.2 Katheterintervention	113

4.2.3 Ergebnisse der klinischen Untersuchung	118
4.2.3.1 Allgemeine klinische Untersuchung	118
4.2.3.1.1 Puls und Atmung	118
4.2.3.1.2 Körperinnentemperatur	119
4.2.3.2 Punktionsstelle und sonstiger klinischer Verlauf	119
4.2.4 Labordiagnostische Parameter	120
4.2.4.1 Vorversuche	120
4.2.4.1.1 C-reaktives Protein	120
4.2.4.1.1.1 Lagerungsversuch	120
4.2.4.1.1.2 Referenzwerte	121
4.2.4.1.2 Haptoglobin	121
4.2.4.1.2.1 Wiederholbarkeit/Präzision	121
4.2.4.1.2.2 Referenzwerte	121
4.2.4.1.2.3 Linearität	122
4.2.4.1.3 α 1-saures-Glykoprotein	122
4.2.4.1.3.1 Wiederholbarkeit/Präzision	122
4.2.4.1.3.2 Referenzwerte	122
4.2.4.2 Akute-Phase-Proteine	122
4.2.4.2.1 C-reaktives Protein	128
4.2.4.2.2 Haptoglobin	135
4.2.4.2.3 α 1-saures-Glykoprotein	137
4.2.4.3 Hämatologie	139
4.2.4.3.1 Leukozyten	139
4.2.4.3.2 Neutrophile Granulozyten	141
4.2.4.3.3 Lymphozyten	141
4.2.4.3.4 Hämatokrit	141
4.2.4.4 Klinische Chemie	142
4.2.4.4.1 Totalprotein, Albumin und Globulin	142
4.2.4.4.2 Sonstiges	144
5 ZUSAMMENFASSUNG	145

6 SUMMARY	147
7 LITERATURVERZEICHNIS	150
8 ANHANG	194
8.1 Tabelle mit Rohdaten	194
8.2 Statistische Daten	198
9 DANKSAGUNG	205

Im Text verwendete Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ACDO	<i>Amplatz Canine Duct Occluder</i>
ACE	<i>Angiotensin Converting Enzyme</i>
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
Ag	Antigen
AGP	α 1-saures-Glykoprotein
Ak	Antikörper
Alb	Albumin
APP	Akute-Phase-Protein(e)
APR	Akute-Phase-Reaktion
AS	Aminosäure(n)
BD	Ballondilatation
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
bzw.	beziehungsweise
C	Komplementfaktor
(c)RPLA	<i>Slide (capillary) reverse passive latex agglutination test</i>
Ca	Calcium
ca.	Circa
CD	<i>Cluster of determination</i>
CHF	kongestives Herzversagen
CKCS	Cavalier King Charles Spaniel
Cm	Zentimeter
Cp	Ceruloplasmin
CRH	<i>Corticotropin-releasing</i> Hormon
CRP	C-reaktives Protein
CV	<i>Coefficients of variation</i>
d.h.	das heißt
DCM	dilatative Kardiomyopathie
DIC	disseminierte intravasale Gerinnung

DSH	Deutscher Schäferhund
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ER	endoplasmatisches Retikulum
et al.	et alii
etc.	et cetera
Fb	Fibrinogen
FcγR	<i>Fc-epsilon receptor</i>
Fe	Eisen
ggf.	gegebenenfalls
ggr.	geringgradig
gp130	Glykoprotein 130
H	Stunde
HAC	Hyperadrenokortizismus
Hb	Hämoglobin
HDL	<i>High-density</i> lipoprotein
Hp	Haptoglobin
HG	Herzgeräusch
hgr.	hochgradig
Hkt	Hämatokrit (<i>Packed Cell Volume</i>)
HS	Hepatoenzephales Syndrom
hs-CRP	<i>High sensitivity</i> CRP-assay
HWZ	Halbwertszeit
ICU	<i>Intensive Care Unit</i>
IFN	Interferon(e)
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin(e)
IL-1R	Interleukin 1 Rezeptor
IL-1Ra	Interleukin 1 Rezeptorantagonist

IL-1sR	löslicher Interleukin 1 Rezeptor
inkl.	inklusive
ISACHC	International Small Animal Cardiac Health Council
iv.	intravenös
kDa	Kilodalton
Kg	Kilogramm
L	Liter
LBP	Lipopolysaccharid-bindendes-Protein
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LPS	Lipopolysaccharid
Mg	Milligramm
mgr.	mittelgradig
Min	Minute
MI	Myokardinfarkt
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
mRNA	<i>messenger</i> Ribonukleinsäure
N	Anzahl der Probanden
NO	Stickstoffmonoxid
NT-ProBNP	N-terminales <i>pro brain natriuretic peptide</i>
NYHA	New York Heart Association
P	Signifikanzwert; probability
p.o.	per os
PA	Pulmonalarterie
PDA	persistierender Ductus arteriosus Botalli
PDA-c	komplizierter Verlauf persistierender Ductus arteriosus Botalli
PDA-u	unkomplizierter Verlauf persistierender Ductus arteriosus Botalli
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
Pg	Pikogramm
pl	isoelektrischer Punkt
PS	Pulmonalstenose

PS-c	komplizierter Verlauf Pulmonalstenose
PSS	Portosystemischer Shunt
PS-u	unkomplizierter Verlauf Pulmonalstenose
R	Rezeptor
RBC	<i>Red blood cells</i>
RES	retikuloendotheliales System
RPLA	<i>Reverse passive latex agglutination test</i>
RPM	<i>Rotations per minute</i>
SAA	Serum Amyloid A
sc.	subkutan
SD	Standardabweichung, „ <i>Standard Deviation</i> “
SEM	<i>Standard error of the mean</i>
sIL-6R	löslicher Interleukin 6 Rezeptor
SIRS	<i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>
SLE	systemischer Lupus erythematodes
sog.	sogenannte
SRID	<i>Single radial immunodiffusion</i>
SRMA	Steroid responsive Meningoenzephalitis
STAT	<i>Signal Transducers and Activators of Transcription</i>
Tab.	Tabelle
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor β</i>
Th1	Lymphozyt vom Typ Helfer-1
Th2	Lymphozyt vom Typ Helfer-2
TNF	Tumor Nekrosefaktor
TNF-R	Tumor Nekrosefaktor Rezeptor
TP	Totalprotein
u.a.	unter anderem
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
v.a.	vor allem
Wbc	Leukozytenzahl (white blood cells)

z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
ZP	Zeitpunkt(e)
°C	Grad Celsius
μl	Mikroliter

1 EINLEITUNG

Die Diagnose und Therapie entzündlicher Prozesse ist sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin von großer Bedeutung.

Die Reaktion des Immunsystems auf Gewebeschäden, zum Beispiel im Rahmen von Infektionen, Inflammation, Nekrosen, Traumata, Neoplasien oder immunologischer Reize, kann in der Initiierung einer sogenannten Akuten-Phase-Reaktion resultieren. Charakteristikum dieser Reaktion ist neben Fieber und Leukozytose die Produktion der Akute-Phase-Proteine (APP) [32, 82, 275, 277]. Es handelt sich um sehr sensitiv, aber unspezifisch reagierende Entzündungsparameter.

Anhand des Verlaufs unterscheidet man zwischen negativen APP (die Konzentration fällt während einer Akuten-Phase-Reaktion (APR) um mindestens 25% ab) und positiven APP (die Konzentration steigt während einer APR um mindestens 25% an) [82, 275, 277]. Letztere unterscheiden sich im Ausmaß und im zeitlichen Verlauf des Anstiegs und werden in *major*, *moderate* und *minor* APP unterteilt. *Major* APP, kommen bei gesunden Individuen in geringen Konzentrationen vor und zeigen nach Stimulation einen 100- bis 1000-fachen Anstieg [82, 275, 277]. Sie erreichen ihre maximalen Konzentrationen innerhalb von 24h bis 48h. *Moderate* APP sind im Blut gesunder Tiere nachweisbar, sie steigen während einer APR um das fünf- bis zehnfache ihrer Ausgangswerte. Der Konzentrationshöhepunkt wird zwei bis drei Tage nach der Stimulation erwartet. *Minor* APP zeigen nach Gewebetrauma einen Konzentrationsanstieg um 50% bis 100%. Es existieren zahlreiche verschiedene APP und speziesspezifische Unterschiede in relevanten Proteinen und deren Konzentrationsverlauf. Die für den Hund relevanten APP sind als *major* APP das sogenannte C-reaktive Protein (CRP) und das Serum Amyloid A, als *moderate* APP sind Haptoglobin (Hp), α -1-saures-Glykoprotein (AGP) und Ceruloplasmin anzusprechen [82, 126, 227, 275, 277, 383].

Das Monitoring der Konzentration von APP zur Infektions- und Inflammationsüberwachung wird in der Humanmedizin seit Jahrzehnten praktiziert [18, 215, 229, 279]. APP werden auch bereits vielfältig zur Detektion von Entzündungen, zum postoperativen Monitoring sowie zur Therapieüberwachung bei verschiedenen kaninen Krankheiten eingesetzt [30, 102, 254, 300].

Der serielle Verlauf von APP nach Herzkathetereingriffen zur Therapie von angeborenen Herzerkrankungen beim Hund wurde bisher noch nicht untersucht. Es wäre möglich, dass es nach einem solchen Eingriff zur APR kommt. Durch die Kenntnis des Konzentrationsverlaufs der APP wäre es gegebenenfalls möglich, die postoperative Überwachung, das Patientenmonitoring sowie eine Prognosestellung zu optimieren.

Ziel der Studie war daher die Evaluierung der APR anhand der Konzentrationsentwicklung von CRP, Hp und AGP nach Ballondilatation von Hunden mit Pulmonalstenose (PS) sowie Implantation eines

Amplatz Canine Duct Occluder bei Hunden mit persistierendem Ductus arteriosus Botalli (PDA). Zudem sollten die Werte mit den klassischen Entzündungsparametern wie Leukozyten, Globulin etc. verglichen werden. Es sollten folgende Fragen beantwortet werden:

Kommt es nach einem interventionellem Kathetereingriff zur Therapie des kaninen PDA bzw. der PS zu einer systemischen APR?

Ist die APR abhängig von der Art des Eingriffes oder dem Vorliegen von Komplikationen?

Ist der Verlauf der APP zum Therapiemonitoring besser geeignet als klassische Entzündungsparameter?

Welches APP ist am besten geeignet, um den Verlauf der Entzündung zu evaluieren?

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Akute-Phase-Reaktion

2.1.1 Definition

Die Akute-Phase-Reaktion (APR) ist ein komplexes und unspezifisches Phänomen der angeborenen Immunantwort. Sie ist die Reaktion des Organismus auf verschiedene, kürzlich vorangegangene Gewebeschädigungen, deren Auslöser Infektionen (bakteriell, viral, mykotisch, parasitär), Inflammationen, Nekrosen, sowie mechanische, chirurgische oder thermische Traumata, Toxine, Neoplasien oder immunologische Erkrankungen sein können [32, 82, 257, 275, 277]. Diesen Stimuli ist gemeinsam, dass sie einen Zell- bzw. Gewebetod induzieren und Makrophagen aktivieren [32, 257, 449]. Die APR beschreibt hierdurch entstehende pathophysiologischen und systemischen Veränderungen, die die normalen homöostatischen Mechanismen umstellen [216, 277]. Dabei wird zwischen einer lokalen und einer systemischen Reaktion unterschieden. Die lokale Reaktion manifestiert sich als akute Entzündungsreaktion, während die systemische Reaktion mit neurologischen, endokrinen und metabolischen Veränderungen einhergeht. Letztere ist die APR im eigentlichen Sinne [155, 257, 277, 449]. Es handelt sich um eine sehr schnelle Reaktion auf eine Noxe. Sie tritt vor Stimulation der spezifischen Immunantwort und manchmal vor klinischen Symptomen ein. Weiterhin ist die APR unspezifisch und erfolgt sekundär zu verschiedensten Störungen [82, 155]. Die APR ist verantwortlich für die Abwehr in den kritischen Frühphasen eines Angriffs. Sie ist die erste Reaktion des Wirts gegenüber einem Pathogen und einem Gewebeschaden und initiiert spezifische Reparaturmechanismen. Sinn der APR ist es, die Gewebeerstörung zu minimieren und deren Ursache zu beseitigen, den Reparaturprozess zu beschleunigen, dem Untergang des angegriffenen Gewebes vorzubeugen, zerstörtes Gewebe abzubauen und beschädigte Organe instand zu setzen [32, 82, 257, 275, 342]. Somit setzt sie die Prozesse in Gang, die zur Wiederherstellung der Funktion der beschädigten Gewebe/Organe notwendig sind, um so letztlich die Homöostase wieder herzustellen [32, 82, 257, 276].

2.1.2 Lokale Entzündungsreaktion

Die lokale Reaktion manifestiert sich als akute Entzündung mit den Kardinalsymptomen der Entzündung (Rötung, Hitze, Schwellung, Schmerz, Funktionsverlust). Sie entsteht durch eine Aktivierung des Kallikrein-Kinin- sowie des Gerinnungssystems mit Thrombusbildung und Plättchenaggregation. Es kommt zur Gefäßdilatation mit dadurch verlangsamten Blutfluss und vermehrter Gefäßpermeabilität. Dadurch wird der regionale Blutfluss in der entzündeten Region erhöht. Es kommt in der Folge zu Gewebeödem und Schwellung, einer Extravasation von

Erythrozyten, Verlust von Plasmaproteinen und Verschiebung von Flüssigkeit in das Gewebe. Zell-Adhäsionsmoleküle (z.B. E-selectin, P-selectin) und der verlangsamte Blutstrom erleichtern die Bewegung der Entzündungszellen von der Zirkulation in das Entzündungsgebiet. Es kommt zur Migration von neutrophilen Granulozyten und später auch mononukleären Zellen (Makrophagen, Monozyten) in das Gewebe [275, 449]. Diese phagozytotischen Zellen ingestieren Fremdmaterial und Zelldetritus. Sie setzen weiterhin hydrolytische und proteolytische Enzyme frei und generieren reaktive Sauerstoffspezies, die die Pathogene eliminieren. Wenn der störende Stimulus zerstört, die normale Gewebestruktur und -funktion wiederhergestellt sind, beenden endogene antiinflammatorische Mediatoren den Prozess. Ist dies nicht der Fall, setzen aktivierte und eingewanderte Makrophagen eine Vielzahl an Mediatoren (Zytokine, Interleukine (IL), Interferone, Prostaglandine, Komplementfaktoren und Chemokine) frei. Diese koordinieren die vaskulären Veränderungen und rekrutieren weitere Entzündungszellen. Sie arbeiten pleiotroph und haben neben ihrer lokalen auch systemische Wirkung (siehe 2.1.3) [32, 184, 449].

2.1.3 Systemische Entzündungsreaktion

Makrophagen spielen eine zentrale Rolle in der Initiierung der APR. Die eingewanderten Monozyten und Makrophagen werden durch Phagozytose der Erreger und Zelltrümmer aktiviert. In der Folge setzen sie eine Vielzahl an Mediatoren, u.a. Zytokine frei, die für die Initiierung, Regulation und Beendigung der systemischen APR verantwortlich sind. Die wichtigsten Zytokine, die die APR medieren sind IL-1, IL-6 und TNF- α . Auch Eicosanoide, verschiedene koloniestimulierende Faktoren und Interferone (IFN) spielen eine Rolle. Diese Mediatoren werden in die Zirkulation entlassen und sind in der Lage, die systemischen Merkmale der APR auszulösen [114, 124, 371, 449].

Die drei charakteristischen systemischen Merkmale der APR sind: Fieber (mit Somnolenz und Anorexie), Leukozytose sowie eine erhöhte Synthese der Akute-Phase-Proteine (APP) in der Leber [32, 184, 216, 257, 449]. Es kommt weiterhin durch Involvierung von Gerinnungs-, Hormon- und Immunsystem zu Aktivierung des humoralen und zellulären Immunsystems, vielfältigen klinischen und labordiagnostischen Auswirkungen sowie metabolischen Veränderungen [275, 277]. So zeigen sich eine Lipolyse und diverse Veränderungen im Lipidmetabolismus mit Freisetzung von Lipiden und einer gesteigerten Gluconeogenese. Es kommt zur erhöhten Gerinnungsneigung und Aktivierung von Komplement- und Kinin-System. Außerdem sinkt die Thyroxin-Konzentration, die Sekretion von Adrenocorticotropes Hormon (ACTH) und Glukokortikoiden und auch die Syntheserate einiger anderer Hormone (Glucagon, Insulin, Katecholamine, Acetylcholin, *Growth Hormone*, *thyroid stimulation Hormon*, Aldosteron und Vasopressin) wird gesteigert. Die Stimulation des zentralen Nervensystems resultiert in einer Vielzahl von Reaktionen, die in den meisten Fällen durch die

Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren bzw. Gonaden-Achse mediert werden. Hierzu gehören auch Verhaltensveränderungen wie Lethargie, Anorexie und Adipsie. Es kommt zu erhöhten Kupferspiegeln, was auf eine Erhöhung der Konzentration des kupferbindenden APP Ceruloplasmin (Cp) zurückgeführt werden kann. Der Zinkspiegel fällt ab, was durch eine erhöhte Synthese von zinkbindendem Metallothionein, eine IL-6 vermittelte Sequestration in der Leber und durch den Einfluss von ACTH, Glukagon und Glukokortikoiden auf die Zinkbindungskapazität der Leber erklärt werden kann. Serumeisenspiegel fallen als Resultat der Umverteilung zwischen Plasma und Gewebe ab. Eine negative Stickstoffbilanz entsteht durch einen erhöhten Muskelproteinkatabolismus, Proteolyse und verminderter Proteinsynthese im Muskel [17, 80, 82, 124, 155, 184, 216, 257, 275, 277, 342, 371, 449]. Verschiedene entzündungsassoziierte Zytokine stimulieren die Knochenresorption und inhibieren die Knochenformation [276, 277]. Das hämatopoetische System ist ebenfalls involviert. So kommt es neben Leukoztose zu Thrombozytose und bei chronischen Zuständen außerdem zu einer reduzierten Erythropoese [277]. Das retikuloendotheliale System ist während der APR ebenfalls kurzfristig supprimiert [275].

Die APR unterscheidet sich speziesspezifisch und in Abhängigkeit von der auslösenden Noxe. Es ist bekannt, dass nicht alle APR-Phänomene bei allen erkrankten Patienten vorkommen. So gibt es z.B. Patienten mit hohen C-reaktives-Protein (CRP) Werten, die afebril sind und umgekehrt. [275, 277].

Durch schützende und Homöostase erhaltende Gegenregulationsmechanismen flaut die APR im Normalfall innerhalb weniger Tage ab und es erfolgt die Heilung. In einigen Fällen kommt es allerdings zum Übertritt in eine chronische Entzündung, wobei das Oxymoron der chronischen APR entsteht. Es ist nicht genau geklärt, wann dies der Fall ist und ob die Persistenz der entzündlichen Stimuli oder eine Störung der Kontrollmechanismen auslösend sind [32, 277]. Eine exzessive und chronische Produktion der Entzündungsmediatoren kann negative oder fatale Folgen haben. Der Übertritt in chronische Erkrankungszustände kann zu Komplikationen führen. Hierzu zählen in der Humanmedizin zum Beispiel kardiovaskuläre Erkrankungen oder Ablagerungen von APP wie bei der reaktiven Amyloidose [82].

2.1.4 Regulation

2.1.4.1 Zytokine

Die APR wird sowohl direkt, als auch indirekt durch ein komplexes, hierarchisches Netzwerk interzellulärer Signalmoleküle wie Zytokine, Zytokinmodulatoren und Hormone reguliert [277]. Zytokine sind Protein-Mediatoren der Zell-zu-Zell-Kommunikation, die hauptsächlich von mononukleären Zellen sezerniert werden. Während inflammatorischer Zustände sind Zytokine für die Initiierung, Regulation und den Rückgang der APR sowie die Produktion der APP verantwortlich [17, 33, 35, 342]. Zytokine sind Glykoproteine und werden je nach Bildungsort als Lymphokine, Monokine, IL oder IFN bezeichnet. Sie wirken in pico- oder nanomolaren Konzentrationen para-, auto- oder endokrin auf verschiedene Zielzellen. Dazu sind spezielle Oberflächenrezeptoren notwendig [17, 32, 257, 277]. Zytokine können ihre Expression und Aktivität selbst induzieren sowie andere Zytokine und deren Rezeptoren *up*- oder *down*-regulieren. Weiterhin wird der Effekt der Zytokine beeinflusst durch Rezeptorantagonisten, zirkulierende Rezeptoren, Autoantikörper und der Bindung an Plasmaproteine. [17, 257, 275, 277]. Es hat sich gezeigt, dass Zytokine untereinander additive, inhibitorische oder synergistische Wirkung ausüben können [257, 275, 277, 290]. Zytokine arbeiten pleiotroph und redundant. So kann jeder Faktor multiple Effekte auf verschiedene Zellen ausüben, verschiedene Faktoren können jedoch auch auf dieselbe Zelle einwirken und dieselben Effekte induzieren [451]. Die Serumkonzentration von Zytokinen steigt innerhalb von wenigen Stunden nach dem initialen Stimulus an. Ebenso werden sie durch die relativ kurze Halbwertszeit (HWZ) innerhalb von Stunden aus der Zirkulation entfernt [17, 155, 243, 257, 277, 383]. Die Modulation der Synthese der APP der Leber wird durch synergistische Arbeit verschiedener Zytokine und Kofaktoren gewährleistet. Insgesamt sind zehn verschiedene Zytokine bekannt, die die APP Produktion in der Leber beeinflussen: **IL-6, TNF- α und IL-1 sind die Schlüsselmediatoren der APR** (siehe auch Tabelle (Tab) 1). Daneben kommen noch *Leukemia inhibitory factor*, *Oncostatin M*, *ciliary neurotrophic factor* und IL-11, die alle zusammen mit IL-6 dieselbe signalübertragende Einheit/Proteindomäne verwenden, sowie IL-4, TGF- β (*Transforming Growth Factor β*) und IFN- γ vor. Auch endogene Glukokortikoide spielen eine Rolle und wirken synergistisch (siehe 2.1.4.3) [80, 82, 112, 257, 277, 370]. **IL-1 β und TNF- α sind die frühen Aktivatoren des Zytokinnetzwerkes und IL-6 ist der Hauptinduktor der APR.**

TNF und IL-1 werden im Rahmen der APR früher als IL-6 produziert und können die IL-6 Synthese direkt stimulieren. Dies hat wiederum ein negatives Feedback auf die Synthese der IL-1 Typ Zytokine zur Folge. IL-1 und TNF initiieren die Freisetzung von weiteren chemotaktischen Zytokinen aus Fibroblasten und Endothelzellen (secondary wave). IL-1 wird daher auch als „Alarm“-Zytokin

bezeichnet [32, 184, 257, 383, 449, 461]. Die Injektion von rekombinantem humanem oder bovinem TNF in Ziegen führt zu einer Vielzahl an physischen, hämatologischen und metabolischen Veränderungen, die charakteristisch für eine APR sind. Es kommt zu Zittern, biphasischem Fieber, Tachykardie, Erniedrigung der Zink- und Eisen(Fe)-Konzentration sowie Lymphopenie und Neutrophilie [478]. IL-1 und TNF stimulieren aber auch Hepatozyten in vivo und vitro zur **APP Synthese (Typ 1 APP)** [51]. Sie fördern den Proteinkatabolismus in der Muskulatur, erhöhen den Aminosäure-uptake in die Leber und induzieren so die APP Synthese [17, 82]. IL-1 inhibiert die Synthese der negativen APP und stimuliert die positiven APP. Letztendlich erleichtert IL-6 die Freisetzung der APP in den Blutstrom.

Obwohl verschiedene Zytokine die APP Produktion kontrollieren ist IL-6 der wichtigste Regulator und potenteste Mediator der APR [17, 32, 82, 277, 449]. Bei humanen postoperativen Patienten finden sich substantiell erhöhte IL-6 Level, deren Konzentration streng mit den Konzentrationen des CRPs korrelieren. Weiterhin weisen Patienten, die mit Anti-IL-6-Ak behandelt werden deutlich reduzierte CRP Konzentrationen auf [277]. Auch im Rahmen der kaninen APR steigt IL-6 deutlich messbar an [82, 518].

Abhängig davon durch welches Zytokin sie reguliert werden, wurden die APP durch Baumann 1989 in 2 Subklassen eingeteilt [34]. Typ 1 APP (*first line* APP) werden durch IL-1 und TNF (sowie synergistisch durch IL-6) induziert. Sie steigen innerhalb weniger Stunden nach einem Stimulus und normalisieren sich schnell nachdem die Ursache des Anstiegs beseitigt ist. Typ 2 APP (*second line* APP) werden durch IL-6 ähnliche Zytokine ((IL-6, Oncostatin M, *ciliary neurotrophic factor*, IL-11, *Leukemia inhibitory factor*) induziert, steigen langsamer und bleiben über einen längeren Zeitraum erhöht [32, 243, 342, 370, 371, 383]. Die Synthese von Typ 2 APP kann weder durch IL-1 induziert noch synergistisch stimuliert werden. IL-1 wirkt jedoch inhibitorisch auf einige Typ 2 APP [115, 183].

Insgesamt können die Akute-Phase-Zytokine in drei funktionelle Gruppen unterteilt werden:

1. Proinflammatorische Zytokine, die die Eventkaskade initiieren: IL-1-Typ Zytokine (IL-1 α , IL- β , TNF- α , und TNF- β), IFN- γ und IL-8
2. IL-6-Typ Zytokine (IL-6, *Leukemia inhibitory factor*, IL-11, Oncostatin M, *ciliary neurotrophic factor*, Cardiotrophin-1), die verantwortlich sind für Hauptreaktionen der APR in verschiedenen Geweben von Leber bis Knochenmark
3. Antiinflammatorische Zytokine, die die APR *down*-regulieren: z.B. IL-10, IL-4, IL-13, TGF- β

Diese Einteilung ist stark vereinfacht, da viele Zytokine ja nach Stand der Entzündung verschiedene Rollen spielen und Glukokortikoide und Wachstumsfaktoren (z.B. Insulin, *hepatocyte growth factor*, *fibroblast growth factor* und TGF- β) als Modulatoren wirken (siehe 2.1.4.3) [257].

Tabelle 1: Übersicht über die Hauptzytokine der APR

	Interleukin 6	Interleukin 1	TNF
Stimuli	bakterielle und virale Infektionen, LPS, TGF- β , doppelsträngige Ribonukleinsäure, TNF- α , IL-1, <i>Platelet Derived Growth Factor</i> (PDGF), Katecholamine, IFN- γ , IL-6 [32, 159, 161, 184, 216, 227, 237, 239–241, 345, 351, 371, 449]	IL-1 α : LPS [115, 257], IL-1 β : nahezu alle mikrobiellen Produkte (v.a. LPS), IL-1 β selbst, Komplementsystem, Anheftung an Oberflächen, Blutgerinnung, Bradykinin [112, 115]	LPS, Viren, Pilze, parasitäre Antigene, Enterotoxine, Immunkomplexe, Bradykinin [112, 487]
Funktion	Schlüsselfunktion: Mediierung der APR, Induktion der hepatischen APP Synthese, endogenes Pyrogen; auch andere Aufgaben (oft durch Regulation Zellwachstum und –differenzierung) bei Hämatopoese, Endokrinologie, Neurologie, Onkogenese, Immunmodulation und Gerinnung [17, 86, 87, 139, 155, 155, 159, 161, 183–185, 216, 237, 239–243, 258, 258, 351, 351, 351, 449, 449, 452, 461, 510, 510]	Hauptvertreter der proinflammatorischen Zytokine, (aber auch antiinflammatorische Aufgaben), Hauptmediator der APR: „Alarm“-Zytokin bei der Produktion der APP (siehe Text), endogenes Pyrogen, Beeinflussung der Gerinnung, Differenzierung der myeloiden Reihe, auch lokale Effekte (z.B. chemotaktischer Botenstoff für neutrophile Granulozyten und Monozyten und Induktion der Fibroblastenproliferation) [17, 46, 51, 52, 61, 87, 114, 115, 115, 139, 155, 257, 449, 461]	Produktion Typ 1 APP, Pyrogen, antiviraler Effekt, selektive Anti-Tumor-Wirkung, Beeinflussung der Gerinnung, auch lokale Effekte (z.B. Akkumulation der neutrophilen Granulozyten, Aktivierung der Phagozytose und <i>superoxid burst</i> , Aktivierung von Kollagenasen), Überproduktion von TNF- α : systemischer Toxizität, Schock, ggf. Tod [17, 46, 87, 451, 486–488]
Rezeptor	Immunglobulin (Ig) Superfamilie, Hämatopoetische-Rezeptor-(Super)Familie, spezifische Zytokin-bindende α -Untereinheit und Signal übertragende β -Untereinheit [17, 159, 161, 185, 239, 241–243, 342, 351, 451, 489]	Immunglobulin (Ig) Superfamilie, zehn Mitglieder, einige Orphan Rezeptoren, biologisch aktiver Typ 1 IL-1Rezeptor (IL-1R) mit Bindung eines Korezeptors sowie inaktiver Typ 2 IL-1R (Köderrezeptor) [17, 20, 32, 61, 115, 242, 342, 451, 489]	Immunglobulin (Ig) Superfamilie, TNF-R1 (55kDa) und TNF-R2 (75kD) mit unterschiedlichen intrazellulären Signaltransduktionswegen aber gleicher Funktion [17, 342, 451, 487]
Lösliche Rezeptoren	Agonistische lösliche Rezeptorsubunits (sIL-6R): <i>Transsignalling</i> , antagonistische zytosolische gp130: Inhibition <i>Transsignalling</i> [139, 183, 216, 237, 241, 243, 342, 351, 451, 452]	Löslicher Interleukin 1 Rezeptor (IL-1sR): Inhibitor, IL-1sR hebt inhibitorischen Effekt von IL-1Rezeptorantagonist (IL-Ra) auf [61, 115, 342, 489].	

2.1.4.2 Transkriptionsfaktoren und Akute-Phase-Protein-Gene

Die APP werden hauptsächlich über eine vermehrte Transkription reguliert. Nach Aktivierung und Translokation der Transkriptionsfaktoren binden diese an ihre responsiven Elemente in der Promotorregion der APP Gene. Zusammenfassend können vielfältige Transkriptionsfaktoren für die vermehrte Expression von APP Genen identifiziert werden:

NF- κ B-related factor, nuclear factor activator-protein-1: Typ1 APP Gene

Nuklearfaktor IL-6 (=CAAT-enhancer binding protein) und Glukokortikoid Rezeptor: Typ 1 und 2 APP Gene

IL-6 response binding protein und *acute phase response factor* (=STAT3): Typ 2 APP Gene

[32, 84, 155, 208, 243, 257, 277, 351, 451, 497]. [17, 239–241, 243, 277, 342, 487, 500].

2.1.4.3 Andere für die Akute-Phase-Reaktion relevante Moleküle

Während die Zytokine als primäre Stimulatoren der APP Synthese fungieren, erfüllen Glukokortikoide, Insulin und Wachstumsfaktoren (TGF- β) eher die Aufgabe der Zytokinmodulation und unterstützen die Expression der APP-Gene teilweise synergistisch [32, 69, 155, 277]. So verstärkt beispielsweise TGF- β die IL-6-Zytokine bei der Induktion der Typ 2 APP [293, 342] und **hepatocyte growth factor** antagonisiert zumindest teilweise die IL-6 und je nach APP die IL-1 Wirkung [173, 342]. **IFN- γ** aktiviert Makrophagen und beeinflusst als pleiotropes Zytokin diverse Immun- und Entzündungsprozesse und agiert unterstützend bei der *down*-Regulation einiger APP [17, 46, 290, 486]. Zytokine aktivieren weiterhin Sympathikus und Parasympathikus, so dass Katecholamine und Acetylcholin freigesetzt werden, was wiederum die Zytokinfreisetzung reduziert [371].

Zu den Zytokinen, die die APR modulieren gehören u.a. **IL-4** (inhibiert die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen, fördert die Sekretion des IL-1 Rezeptorantagonist) [32, 290], **IL-8** (v.a. proinflammatorisch durch Aktivierung von neutrophilen Granulozyten, Granulopoese und Chemotaxis, aber auch antiinflammatorisch durch Hemmung der Leukozyten-Endothel-Adhäsion) [257, 528], **IL-10** (siehe IL-4 plus Reduktion der Neutrophilenadhäsion an aktivierte Endothelzellen und Inhibition der T-Zellproliferation) [32, 200, 297, 493], **IL-13** (*down*-Regulation der Monozytenfunktion, Stimulation der B-Zell-Proliferation) [46].

Es existieren komplexe Interaktionen und Feedbackmechanismen zwischen **Glukokortikoiden** und der Regulation der APP Synthese [32–35]. Den Glukokortikoiden kommt eine doppelte, kontraindikative Rolle zu. Zytokine fördern die Synthese von ACTH und somit die Produktion von Kortisol. So entsteht ein negativer-Feedback-Mechanismus zur Kontrolle der APR, da Kortikosteroide die Produktion vieler Zytokine (z.B. IL-6) aus Makrophagen und Stromazellen inhibieren. So kommt es durch Glukokortikoide zur Suppression der proinflammatorischen und zur *upregulation* der

antiinflammatorischen Zytokine. Allerdings verstärkt Kortisol den Effekt der Zytokine auf die APP Synthese und kann diese zum Teil direkt stimulieren und die Transkriptionsraten modulieren, wobei der Effekt der Glukokortikoide in Abwesenheit der Zytokine minimal ist. Sowohl Glukokortikoide als auch IL-6 selbst steigern die Expression der IL-6 Rezeptoren in der Hepatozytenmembran in vivo [34, 35, 342]. Glukokortikoide hemmen weiterhin die Emigration neutrophiler Granulozyten und phagozytisch aktiver Monozyten und können eine Vasokonstriktion erzeugen [17, 32, 33, 147, 216, 277, 303, 342, 451, 461, 487].

2.2 Hauptmerkmale der Akute-Phase-Reaktion

2.2.1 Fieber

Unter Fieber wird die durch endogene Pyrogene regulierte Rejustierung des Thermoregulationssollwerts im Hypothalamus und somit Erhöhung der Körperkerntemperatur über den Referenzwert verstanden [326]. Fieber stellt eine der Hauptkomponenten der APR dar und ist ein wichtiger Schutzmechanismus des Organismus und die Antwort des Körpers auf verschiedene pathogene Stimuli (Infektion, Inflammation, Neoplasie etc) [277]. Fieber wird durch verschiedene exogene und endogene Pyrogene (infektiöse Agenzien, Immunkomplexe, Gewebse Nekrose, Medikamente etc) initiiert. Diese veranlassen Immunzellen, vor allem Makrophagen, Zytokine freizusetzen. Fieber wird hauptsächlich durch drei Zytokine reguliert: IL-1, IL-6 und TNF [20, 115, 461, 486]. Auch andere endogene Pyrogene wie IFN- γ und *macrophage inflammatory protein-1* (MIP 1) spielen eine Rolle [486, 487]. Da Zytokine die Blut-Hirn-Schranke nicht durchqueren können, medieren sie ihre Effekte durch die Induktion des Gewebshormons Prostaglandin E_2 . Dieses wiederum aktiviert hypothalamische Zentren, die für die Thermoregulation zuständig sind. IL-1 und TNF führen im Gegensatz zu IL-6 auch unabhängig von Fieber zur Somnolenz. Die Produktion von IL-1 β sowie TNF (letztgenanntes im Gehirn selbst) spielt eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese von Anorexie [139, 155, 277, 371, 449].

Die immunologischen Folgen einer Temperaturerhöhung sind eine gesteigerte Immunabwehr, eine herabgesetzte Toxizität freigesetzter Bakterientoxine, eine verstärkte Antigenerkennung, eine erhöhte Mobilität und Aktivität der Leukozyten mit vermehrter Phagozytose und Produktion von Zytokinen. Die Freisetzung eisenbindender Proteine führt zu einer Verminderung der Eisenkonzentration im Blutplasma. Diese Faktoren führen in Kombination mit der erhöhten Körperkerntemperatur maßgeblich zur Reduktion des eisenabhängigen Bakterienwachstums. Viele Bakterienarten können aufgrund der fieberhaften Temperatur nur wenig Chelate zur Eisenbindung bilden. Darüber hinaus hemmt eine erhöhte Körpertemperatur die bakterielle LPS Synthese, sodass dieses zum Aufbau der intakten Bakterienhülle von gramnegativen Bakterien fehlt. Dadurch wird es

dem Serum-Komplementsystem ermöglicht diese Bakterien leichter zu perforieren und abzutöten noch bevor die Antikörperproduktion des Organismus aktiviert wird. Die durch Fieber hervorgerufene Somnolenz führt zu einem erniedrigten zellulären Energieverbrauch [275, 277].

Fieber ist ein nützlicher diagnostischer Indikator für Infektion und Entzündungen, entsteht allerdings auch bei nicht entzündlichen Zuständen wie Neoplasien, degenerativen oder immunmedierten Erkrankungen und kann bei lokalen entzündlichen Zuständen fehlen [275, 371].

2.2.2 Leukozytose

Unter dem Begriff Leukozyten sind Zellen zusammengefasst, die die körpereigene Abwehr gegen Pathogene vermitteln. Es handelt sich um Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten. Die granulozytäre Reihe unterscheidet neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten. Die prädominante Leukozytenpopulation beim Hund sind neutrophile Granulozyten. Veränderungen im Leukogramm (Leukozytose) resultieren meist aus einem *shift* der neutrophilen Population. Nur ca. 3% der Gesamtmasse neutrophiler Granulozyten zirkuliert im Blut. Dieser intravaskuläre Granulozytenpool unterteilt sich in einen zirkulierenden und einen wandständigen bzw. marginalen Anteil. Der Rest der sich entwickelnden und reifen Neutrophilen befindet sich im Knochenmark [15, 503, 502].

Die APR induzierte Leukozytose verläuft biphasisch. Der Anstieg von Kortisol (moduliert die Expression der Zytokine, der Leukozytenadhäsionsmoleküle und der Moleküle, die für Leukozytenreifung, -differenzierung und -wanderung verantwortlich sind), der durch die zytokininduzierte Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse entsteht, und IL-1 induzieren einen schnellen Anstieg der polymorphkernigen Leukozyten. Durch Kortisol und IL-1 kommt es auch zu einer verminderten Adhäsion der reifen Neutrophilen an Endothelzellen und so wird der wandständige Neutrophilenpool zu Gunsten des zirkulierenden Neutrophilenpools vermindert [275, 503, 502]. Weiterhin wird eine erhöhte Freisetzung der Zellen aus dem Speicherpool im Knochenmark induziert. Diese Freisetzung reicht allerdings nicht aus, um den peripheren Phagozytoseanspruch über einen längeren Zeitraum aufrechtzuerhalten, da die neutrophilen Granulozyten nur eine kurze Lebensspanne aufweisen und die Zirkulation per Diapedese (angezogen von endogenen und exogenen Chemokinen) zum Ort der Entzündung verlassen. Neutrophile Granulozyten gehören zu den ersten Blutzellen, die am Ort der Infektion bzw. der Läsion akkumulieren. Durch die Fähigkeit zytotoxische Komponenten wie reaktive Sauerstoffspezies (Superoxidradikale, Hydroxylradikale und Wasserstoffperoxid) und Proteinasen zu bilden, sind sie in der Lage, organische Strukturen zu zerstören. Eine weitere Fähigkeit neutrophiler Granulozyten ist die Phagozytose von Zelltrümmern und Mikroorganismen. Aktivierte neutrophile

Granulozyten synthetisieren neben Eicosanoiden auch Zytokine wie IL-1 und TNF. Der zweite, länger persistierende Anstieg der Leukozyten wird durch eine IL-1 und TNF- α induzierte Aktivierung des Knochenmarks mit vermehrter Myelopoese initiiert. Auch IL-6 fördert die Granulopoese [139, 155, 275, 371, 449, 503, 502]. Die Myelopoese wird weiterhin durch die Aktivierung von hämatopoetischen Zytokinen wie dem Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierendem Faktor und IL-3 angeregt. Die so aktivierten myeloiden Vorläuferzellen differenzieren sich zunächst in stab- und dann segmentkernige neutrophile Granulozyten. Bei gesunden Individuen dauert der Reifungs- und Ausstoßungsprozess der neutrophilen Granulozyten ca. sechs Tage. Während einer Inflammation geschieht dies innerhalb von 12h bis 24h, da Zytokine und Steroide diesen Prozess beschleunigen. Die Zytokine beschleunigen ebenfalls die Diapedese der neutrophilen Granulozyten in das entzündete Gewebe und reduzieren so die HWZ der zirkulierenden Zellen. Andererseits wird die Apoptose der neutrophilen Granulozyten durch Glukokortikoide aufgeschoben und TNF und IFN- γ erhöhen die Lebensspanne der Entzündungszellen im Gewebe [371]. So kommt es theoretisch nach einem entzündlichen Stimulus zu einer Leukozytose. Allerdings variieren inflammatorische Leukogramme. Die gängigste Manifestation einer Entzündung ist eine Leukozytose mit regenerativer Linksverschiebung. Dabei wird unter einer Linksverschiebung die Anwesenheit unreifer neutrophiler Granulozyten in der Zirkulation verstanden. Die Leukozytenzahl (Wbc (*white blood cells*)) hängt vom Verhältnis zwischen Leukozytenproduktion und peripherem Verbrauch ab. Bei hohem Gewebeverbrauch werden unreife Neutrophile (stabkernige Neutrophile und bei schweren Erkrankungen auch Vorläuferzellen wie Metamyelozyten, Myelozyten oder Promyelozyten) vom Knochenmark in die Zirkulation entlassen. Bei einer regenerativen Linksverschiebung ist die Anzahl der reifen, segmentkernigen Neutrophilen höher als die Anzahl der unreifen Neutrophilen. Je stärker die Leukozytenabnormalität ist, desto wahrscheinlicher ist ein pathologischer und desto unwahrscheinlicher ein physiologischer oder medikamenteninduzierter Prozess. Extreme Leukozytose von $>65 \times 10^9/l$ gehen beim Hund unabhängig von der Ursache mit einer schlechten Prognose einher. Eine akute schwere Entzündung kann auch in einer Leukopenie resultieren, was von einer degenerativen Linksverschiebung (Anzahl der stabkernigen übersteigt die der segmentkernigen neutrophilen Granulozyten) begleitet sein kann und ebenfalls eine schlechte Prognose aufweist [503, 502]. Die Differenzialdiagnosen für eine deutliche Leukozytose sind neben infektiösen Erkrankungen auch Neoplasien oder autoimmunmedierte Erkrankungen. Eine leichte Leukozytose kann auch bei Aufregung, Angst und Stress entstehen, so dass ein schneller Anstieg der Leukozyten nicht pathognomonisch für eine Entzündung ist. Die Differenzialdiagnosen bei Leukopenie sind überwältigende, perakute Infektionen und Erkrankungen des Knochenmarks. Um einen zugrunde liegenden entzündlichen Prozess von anderen Ursachen einer Leukozytose unterscheiden zu können,

ist es hilfreich toxische Veränderungen, die als Defekte während der Reifungsperiode zu betrachten sind, zu beurteilen. Hierzu gehören unter anderem Zytoplasmavakuolen, basophiles Zytoplasma, Döhle-Körperchen und selten azurophile Granula. Diese Veränderungen können Abweichungen in der Leukozytenanzahl vorausgehen oder bei Vorbehandlung mit Antibiose fehlen. Die Interpretation der Hämatologie kann durch den Effekt von Glukokortikoiden, Katecholaminen, Neoplasien oder Antibiotika beeinflusst werden. Leukogramme sind weiterhin wenig sensitiv zur Detektion einer Inflammation und können normale Ergebnisse trotz aktivem Entzündungsvorgang liefern. Das Leukogramm sollte als minimale Datenerhebung bei kritisch kranken Tieren auf jeden Fall erhoben werden, ist aber aufgrund der Variabilität nicht als Goldstandard für die Evaluation von Entzündungen zu sehen [87, 503, 502].

2.2.3 Akute-Phase-Proteine

Seit mehr als einem Jahrhundert ist bekannt, dass die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) bei Patienten mit infektiösen Erkrankungen ansteigt. Später fand man heraus, dass dies auf die erhöhte Konzentration verschiedener Plasmaproteine zurückzuführen ist. Der Begriff „*acute phase*“ wurde 1941 eingeführt, um Serum von akut infektiös erkrankten Menschen zu beschreiben. Hier wurde auch CRP bereits erwähnt [2, 383]. Der heutige Begriff der APR beinhaltet wie in 2.1.3 ausgeführt komplexe systemische und metabolische Veränderungen. Zur Diagnose und Definition der APR im engeren Sinn wird auch heute noch die zytokininduzierte Modifikation der hepatischen Genexpression und somit der Syntheserate bestimmter Proteine herangezogen: die sogenannten APP [32, 277, 342]. Die APP sind eine Gruppe von Proteinen die zur Wiederherstellung der Homöostase beitragen und das mikrobielle Wachstum in einer Antikörper (Ak) unabhängigen Weise limitieren [345].

Die Konzentration der APP verändert sich als Reaktion auf eine Entzündung oder auf ein Gewebetrauma entscheidend. Laut Definition verändern sich APP während einer Entzündung um 25% gegenüber dem Referenzbereich. APP sind eine heterogene Gruppe von ungefähr 40 verschiedenen Plasmaproteinen mit unterschiedlichen molekularen und physiologischen Eigenschaften. Es kommen positive APP (z.B. CRP, Haptoglobin (Hp), α -1-saures-Glykoprotein (AGP), Serum Amyloid A (SAA), Cp, C3, C4, Lipopolysaccharid-bindendes-Protein (LBP), Antiproteinasen, Fibrinogen (Fb) etc) vor, die im Rahmen der APR ansteigen, sowie negative APP, eine Gruppe von Plasma(transport)proteinen, die während der APR in ihrer Serumkonzentration abfallen (z.B. Albumin (Alb), Transthyretin, Retinol-bindendes Protein, Transferrin, α 2-HS Glycoprotein) [82, 126, 216, 275, 345]. Es ist unklar, ob dies eine verminderte hepatische Proteinsynthese oder einen erhöhten Katabolismus reflektiert [275].

Bei den positiven APP unterscheidet man je nach Ansprechen auf einen Stimulus zwischen *major*, *moderate* und *minor* APP [82]. Die Proteine unterscheiden sich im Ausmaß und vor allem beim Hund im zeitlichen Verlauf des Anstiegs. *Major* APP kommen im Serum gesunder Tiere nur in sehr geringen Konzentrationen ($<1 \mu\text{g/l}$) vor und zeigen nach Stimulation einen massiven Anstieg um das 10- bis 100-fache, beim Menschen sogar um das 1000-fache ihrer Ausgangskonzentration. Die maximalen *peak*-Konzentrationen sind nach 24h bis 48h erreicht und die Proteinkonzentrationen fallen während der Heilungsphase innerhalb weniger Tage wieder in den Referenzbereich ab. Der hohe Anstieg suggeriert, dass *major* APP eine wichtige Rolle während Entzündungen und eine unwichtige oder schädigende Rolle während physiologischen Zuständen spielen [82, 124, 277]. *Moderate* APP zeigen einen Anstieg um das 2,5- bis 10-fache. Sie kommen beim gesunden Tier in höheren Konzentrationen im Serum vor als *major* APP, sodass die Gesamtmenge der *moderate* APP während entzündlichen Veränderungen größer ist. Maximale Konzentrationen werden nach zwei bis drei Tagen erreicht und der Abfall bis in den Referenzbereich erfolgt langsamer als bei den *major* APP. Die *minor* APP zeigen einen langsamen Anstieg um lediglich das 1,5- bis 2-fache [82, 124, 126, 227, 275, 277, 383].

Der Zeitpunkt (ZP) der *peak*-Werte, das Ausmaß und die Kinetik der APP Produktion hängen weiterhin vom Stimulustyp und dem Ausmaß der inflammatorischen Stimulation ab, da die Geschwindigkeit der Proteinkonzentrationsänderungen direkt mit der Höhe des Entzündungsstimulus korreliert. Für die Ratte konnte unter experimentellen Bedingungen mit Injektion von Terpentinöl allerdings gezeigt werden, dass die Produktion der APP Obergrenzen aufweist [82, 216, 272, 277, 345]. Die Serumkonzentrationen der APP kehren in den Referenzbereich zurück wenn der auslösende Faktor nicht mehr vorhanden ist [383]. Chronische Inflammationen wie z.B. Arthritis können als aufeinanderfolgende Serie inflammatorischer Stimuli angesehen werden. Auch hier werden erhöhte APP gemessen, allerdings ist der Anstieg niedriger als bei akuten Episoden einer Entzündung oder Infektion. Vergleicht man akute und chronische Entzündungen, können Variationen des Anstiegs einzelner APP beobachtet werden [383].

Bei verschiedenen Spezies spielen verschiedene APP eine Rolle. Beim Hund sind CRP und SAA als *major* APP, Hp und AGP als *moderate* APP und Alb als negatives APP anzusprechen [17, 31, 33, 82, 95, 124, 126, 275, 345]. Die größten speziesspezifischen Unterschiede weist CRP auf [275]. Beim Rind verändert sich z.B. die Serum-CRP Konzentration nur unerheblich während einer Entzündungsreaktion, wohingegen es beim Hund ein *major* APP ist. Die Berücksichtigung des speziesspezifischen Verhaltens und der richtigen Probenentnahmezeitpunkte verbessert die diagnostischen und prognostischen Informationen, die aus der Bestimmung der APP gezogen werden können. Dass jede Spezies „eigene“ *major* APP hat, muss somit bei der Auswahl geeigneter

diagnostischer Marker berücksichtigt werden [345, 371]. Alb als negatives APP sinkt bei allen Säugetierspezies im Rahmen der APR um 10% bis 30% [383].

Eine Auflistung der für die einzelnen Tierarten relevanten APP findet sich in Tabelle Tab. 2.

Tabelle 2: Speziesspezifische Unterschiede der APP, modifiziert nach [31, 33, 82, 83, 98, 124, 126, 128, 198, 225, 227, 272, 275, 277, 345, 371, 436].

Spezies	Major APP	Moderate APP	Minor APP	Negative APP
Mensch	CRP, SAA	Hp, AGP, Fb, α 1-Antitrypsin, α 1-Antichymotrypsin, α 1-Proteinase-Inhibitor	Cp, C3, C4, Hemopexin	Alb, Transthyretin, Transferrin, α -Fetoprotein, α 2-HS Glykoprotein
Hund	CRP, SAA	Cp, Hp, AGP, Fb	-	Alb, Transferrin
Katze	SAA, AGP	Hp, Fb, Cp	CRP	Alb
Ratte	SAA, α 2-Macroglobulin, Serum Amyloid P, AGP	Hp, α 1-Proteinase-Inhibitor, Fb, Hemopexin	CRP, Cp	Alb
Rind	Hp, SAA	AGP, Fb, α 2-Macroglobulin, CRP, LBP	Cp, α 1-Proteinase-Inhibitor	Alb
Schwein	PIG-Major akute-phase protein, Hp, SAA	AGP, Fb, CRP	Cp	Alb, Neopterin
Pferd	SAA	Hp, AGP, Fb, CRP	Cp, Proteinase-Inhibitoren	Alb
Kaninchen	Hp, SAA, LBP	α 2-Macroglobulin, Fb, AGP, CRP	Transferrin	Alb
Maus	SAA, Hp, Serum Amyloid P	AGP, Fb, Macroglobulin P, CRP	α 1-Antichymotrypsin, Hemopexin, LBP	Alb
Geflügel	-	AGP, Cp, Fb, SAA, Ovo-Transferrin	-	Alb
Nicht-humane Primaten	CRP	Fb, SAA, α 2-Makroglobulin	-	-
Schaf	Hp, SAA	Cp, Fib, AGP, CRP	-	Alb

Die meisten APP gehören zu den α - (und β -) Globulinen, was bei der Interpretation von Elektrophoresen beachtet werden muss [82, 124]. Die meisten positiven APP sind Glykoproteine [82]. Neben den quantitativen Veränderungen kann es auch zu qualitativen Veränderungen wie einer Modulation durch Glykolisierung kommen [277, 342].

APP reagieren sehr sensitiv mit einer Steigerung der Expressionslevel, aber unspezifisch auf eine Inflammation [82, 126]. Die biologischen Funktionen der APP sind vielfältig, bei jedem Protein unterschiedlich und im Detail bei den jeweiligen APP beschrieben. Insgesamt sind sie am Schutz vor Infektionen und der Reparatur des geschädigten Gewebes sowie der Regulation der Immunantwort

mit Opsonierung, Aktivierung von Komplementfaktoren, Modulation der pro- und antiinflammatorischen Zytokine und der zellulären Abwehr beteiligt. Einige APP haben antibakterielle Aktivität, binden und transportieren Moleküle und Metaboliten, hemmen extrazelluläre Proteinase, fördern Angiogenese, Gerinnung sowie Fibrinolyse und neutralisieren oder beseitigen schädliche Produkte der Entzündung wie freies Hämoglobin (Hb), Häm, Metallionen und freie Radikale [82, 112, 216, 227, 277, 342, 370, 371, 461]. Die meisten APP erfüllen mehrere Aufgaben (z.B. fungiert Cp als Kupfertransporter und Antioxidans, CRP bindet bakterielle Peptide und moduliert die Antwort der Entzündungs- und Immunzellen und Hp bindet freies Hb und kann die Neutrophilenfunktion beeinflussen). Einige APP fungieren als Bindungsstelle für verschiedene Medikamente. Dies muss bei der Therapie mit derartigen Medikamenten während Inflammationszuständen beachtet werden. Ein und dasselbe APP kann kontextabhängig sowohl pro- als auch antiinflammatorische Aufgaben erfüllen [82].

2.2.3.1 C-reaktives Protein

CRP wurde 1930 als erstes APP als Substanz aus dem Blut von Patienten, die an einer akuten Pneumokokken-Pneumonie litten, von Tillet und Francis beschrieben [462]. Es wurde früh während der Infektion in hohen Konzentrationen im Blut gefunden und sank, sofern die Patienten überlebten, auf nahezu undetektierbare Konzentrationen ab. Seinen Namen erhielt es 1941 aufgrund der Fähigkeit C-Polysaccharide (bzw. dessen Phosphocholinreste) aus der Zellwand von *Pneumococcus pneumoniae* zu binden [2, 82, 120, 128, 227, 380, 383, 462]. Obwohl CRP erst vor ca. 85 Jahren beim Menschen entdeckt wurde, ist es ein evolutionär hochkonserviertes Protein. Ein homologes Protein kommt schon beim Pfeilschwanzkrebs *Limulus polyphemus* vor, der seit 70 Millionen Jahren als „lebendes Fossil“ existiert. Dort fungiert das homologe Protein ebenfalls in der Wirtsabwehr und kann gegen Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* schützen [120, 297]. Kanines CRP wurde 1966 identifiziert [113], 1970 isoliert [400] und 1984 charakterisiert [78, 128].

In den frühen Studien von Dillman und Coles zeigte sich, dass im Gegensatz zu Serum von gesunden Tieren im Serum von Hunden nach Induktion einer Entzündung (sc. Injektion entrahmter Milch oder Schweine-Cholera Antiserum, bronchiale Applikation von sterilem Mineralöl, intraperitoneale Injektion von Talkumpuder oder hämolytischer *E.coli*) eine Serumfraktion nachweisbar war, die mit Antikörper gegen humanes CRP reagiert. In allen Experimenten zeigte sich der CRP-Anstieg vor Veränderungen in der Hämatologie oder blieb die einzige Veränderung [113, 128].

Struktur

CRP gehört zur Pentaxin (oder auch Pentatrix) Proteinfamilie, d.h. es bildet Homopentamere durch die diskoidale Anordnung von fünf nicht-kovalent gebundenen Untereinheiten, welche wiederum der *Lectin-fold superfamily* zugehörig ist.

Das pentamere kanine CRP hat ein Molekulargewicht von 125 kDa, wobei es als zyklisches Pentamer in einer scheibenartigen Anordnung aus fünf Untereinheiten zu je 25 kDa besteht. Es existieren zwei verschiedene kanine CRP Isotypen mit unterschiedlichem Molekulargewicht (22 bzw. 25 kDa). CRP besteht beim Hund aus 104 AS [213]. Die Struktur von humanem CRP konnte mittels Röntgenstrukturanalyse bis hin zur atomaren Auflösung charakterisiert werden [446, 447]. Mit mehr als 57% Sequenzidentität ist kanines CRP dem humanen CRP strukturell annähernd identisch. Ein Unterschied zwischen dem humanem und dem kaninen CRP besteht darin, dass beim Hund zwei der fünf Untereinheiten post-translational glykolisiert werden. Jede Untereinheit weist auf der sog. B Seite eine Ca^{2+} abhängige Bindungsstelle für Liganden auf. Auf der Gegenseite (konkave A Seite) jeder *subunit* ist die Effektormolekül-Bindungsseite, welche eine Interaktionsfläche für C1q, *Fc-epsilon receptors* (FcγR) 1 und 2 sowie Faktor H darstellt [78, 82, 123, 128, 176, 213, 227, 297, 446, 447, 490, 517]. Der isoelektrische Punkt von kaninem CRP liegt bei pH 5,76. CRP gehört zu den β-Globulinen [124, 128].

Synthese

CRP wird primär in der Leber synthetisiert. Die Synthese beim Menschen wird hauptsächlich durch IL-6 induziert. Andere Zytokine wie IL-1β, TNF-α, TGF β-1, IFN-γ und auch Kortikosteroide haben einen Einfluss auf die Induktion und können synergistisch wirken sowie die Expression von IL-6 stimulieren (siehe 2.1.4.3) [5, 120, 176, 297].

CRP wird als Monomer in der Leber synthetisiert. Der Zusammenbau zum Pentamer erfolgt im endoplasmatischen Retikulum (ER) [120, 350]. Als Reaktion auf die proinflammatorischen Zytokine kommt es im ER neben der vermehrten Freisetzung auch zu einer *down*-Regulierung der ER-Bindungsstellen für CRP, so dass es zu einer schnelleren Transitzeit durchs ER und somit zu einem schnelleren Anstieg der CRP Konzentration im Serum kommt [120, 277].

In der Humanmedizin wurden auch die Nieren und Adipozyten als Produktionsort für CRP nachgewiesen. Es wird auch von einer lokalen Produktion in arteriosklerotischen Läsionen, dem Myokard, Alveolarmakrophagen, neuronalen Zellen und der glatten Muskulatur von Gefäßen berichtet. Bei transgenen Mäusen für humanes CRP zeigte sich eine geringe CRP Produktion in Thymus, Gehirn, Lunge und Niere. Berichte über extra-hepatische Produktionsstätten sind nicht immer reproduzierbar und die Menge ist im Vergleich zur hepatischen Synthese sehr gering und daher vernachlässigbar [76, 82, 120, 160, 209, 210].

Funktion

Die Funktion von CRP *in vivo* ist noch nicht vollkommen verstanden. *In vitro* wurden zahlreiche, zum Teil gegensätzliche Effekte beschrieben. CRP hat vor allem anti-, aber auch proinflammatorische Eigenschaften. Es ist vor allem in frühen Stadien einer Infektion eine wichtige Komponente der unspezifischen Wirtsabwehr. CRP spielt eine wichtige Rolle beim Schutz gegen und der Eindämmung von Infektionen. Außerdem ist es wichtig für die *Clearance* von geschädigtem Gewebe, Prävention vor Autoimmunität und Regulation der Immunantwort. Es verbindet das unspezifische angeborene mit dem spezifischen erworbenen Immunsystem [119, 120, 338, 345, 448].

Eine Hauptaufgabe des CRPs ist die **Opsonierung und Erhöhung der Phagozytoseaktivität**. CRP wirkt wie eine primitive Form des Antikörpers. Es teilt viele Eigenschaften mit IgG, so z.B. die Möglichkeit den klassischen Komplementweg zu aktivieren, mit FcγR zu interagieren und Liganden zu binden [120, 334]. **Phosphocholin** ist der natürliche Ligand an den CRP mit höchster Affinität bindet [334, 490]. Dieser Schlüsselligand kommt ubiquitär im Phosphatidylcholin von Zellmembranen und Plasmalipoproteinen vor. Phosphocholin ist Bestandteil vieler Bakterien, Pilze und anderer Parasiten. Es kommt nicht auf Oberflächen von Zellmembranen vor. Dies ist erst dann der Fall, wenn es durch Gewebe/Zellschaden, durch das Komplementsystem, Nekrosen oder Phospholipasen freigesetzt wird. Erst dann kann es durch CRP gebunden werden. CRP bindet so zwar an tote oder beschädigte Zellen, nicht aber an die Oberfläche von lebenden, gesunden Zellen. Neben Phosphocholin bindet CRP auch an Fremdmaterial sowie Phospholipidkomponenten von zerstörten oder nekrotischen Zellen, freigesetzte bakterielle und körpereigene Desoxyribonukleinsäure, sowie andere Komponenten der Zellmembran (Sphingomyelin, Lecithin, kupferhaltige Proteine und Polykationen (z.B. aus Leukozytengranula)). CRP bindet ebenfalls an oxidierte Phospholipide, phosphorylierte und sulfylierte Verbindungen, plättchenaktivierenden Faktor, modifiziertes *Low Density Lipoprotein* (LDL) und *Very low density* lipoprotein. Zusammenfassend kommt es also zur Bindung an Bakterien oder intrazelluläres Agens von nekrotischen und zerstörten Zellen. Die Bindung von CRP an apoptotische Zellen wird kontrovers diskutiert [333]. Durch Interaktion mit dem humoralen und zellulären Immunsystem wird die Zerstörung initiiert.

CRP hat die Möglichkeit nach der Ca^{2+} abhängigen Bindung der Liganden mit C1q zu interagieren und so den klassischen Weg der **Komplementkaskade** zu aktivieren [120, 335, 336]. So setzt CRP humorale und zelluläre Effektormechanismen des unspezifischen Immunsystems in Gang und die zerstörten Zellen werden durch Makrophagen entfernt, was zur Gewebereparatur und Regeneration führt. Es kommt zu einer wirksamen Anordnung der C3-Konvertase und die Phagozytose sowie Zytolyse wird erleichtert. Die Aktivierung des Komplements trägt zur Tötung von Mikroorganismen bei [119]. So wird der durch CRP vermittelte Schutz vor pathogenen Bakterien wie *Streptococcus*

pneumoniae und *Haemophilus influenzae* ermöglicht [337]. Komplementaktivierung durch CRP unterscheidet sich von der Aktivierung durch Ak dadurch, dass CRP eine selektive Aktivierung der frühen Komponenten (C1 bis C4) ohne Bildung des *membrane attack complex* bewirkt. Dies ist durch die Interaktion von CRP mit Faktor H, einem Komplementregulationsprotein möglich. Das Resultat ist die Inhibierung des alternativen Weges und der C5-Konvertase sowie eine Limitierung der Progression und Intensität des entzündlichen Effekts, induziert durch die späten Stadien des Komplements. Es wird spekuliert, dass CRP, das an geschädigtem Gewebe abgelagert ist, Faktor H rekrutiert und so die Inflammation reduziert. CRP hat aber auch **komplementunabhängige opsonierende Effekte**. Die Interaktion von CRP mit Fcγ-Rezeptor 1 und 2a auf phagozytotischen Zellen (Monozyten, Makrophagen, neutrophile Granulozyten, Lymphozyten) mediiert die Phagozytose von opsonierten Partikeln [76, 119, 120, 128, 135, 162, 176, 227, 229, 261, 277, 297, 334–336, 345, 382, 383, 403, 446–448, 491, 504, 526].

CRP bindet auf Leukozyten sowohl an die stimulierenden Rezeptoren FcγR1 und R2a als auch an den inhibitorischen Rezeptor FcγR2b. Neben dem erwähnten phagozytotischen Effekt wird so durch CRP auch das **Zytokinprofil** von Makrophagen und Monozyten verändert. Die Erkennung von Pathogenen und die nachfolgende Bindung von CRP an den Fcγ-Rezeptor erhöht die frühe protektive Zytokinantwort während einer Infektion. Die Interaktion von CRP mit FcγR1 induziert die Expression antiinflammatorischer Substanzen wie IL-10 und IL-1RA und die Freisetzung inflammatorischer Zytokine wie z.B. TNF. Die Interaktion von CRP mit FcγR2b hingegen reduziert die FcγR1-Aktivierung und inhibiert die Expression proinflammatorischer Zytokine wie IL-12. Bindung von CRP an FcγR2a führt zur *upregulation* der Expression von IL-8 und Sezernierung von Matrix-Metalloproteinasen [120, 135, 297, 297, 334, 338]. CRP kann durch Induktion der proinflammatorischen Zytokine die Entzündungsantwort im Gewebe verstärken, aber auch den Entzündungsprozess *down-regulieren*. Das Resultat ist die Drosselung der Entzündungsreaktion und im Mäusemodell eine verbesserte Überlebensrate nach Endotoxinbehandlung oder experimentellen Infektionen mit *Salmonella pneumoniae* bzw. *Salmonella typhimurium* [120, 135, 297, 334, 335, 337, 338, 403, 446–448]. Transgene Mäuse die hohe CRP Level exprimieren, waren teilweise vor der letalen Dosis von bakteriellem LPS, plättchenaktivierendem Faktor oder der Kombination aus TNF und IL-1β geschützt [120, 280, 297, 338, 508]. Die Daten von *in vivo* Experimenten mit mononukleären Zellen des peripheren Blutes sowie Alveolarmakrophagen, die mit CRP +/- LPS inkubiert werden, implizieren, dass APP in einer dualen Rolle fungieren: es verstärkt die Entzündungsreaktion, wenn ein Pathogen präsent ist und es reguliert die Entzündung herab wenn das Pathogen beseitigt ist. Der Nettoeffekt von CRP ist durch die Stimulation von IL-1Ra und IL-10 antiinflammatorisch [120, 135, 461].

CRP weist noch weitere antiinflammatorische Funktionen auf, so führt es zu einer **Modulation der Neutrophilenfunktion** (Inhibierung des *respiratory burst* und der Degranulation) und **Inhibition der Chemotaxis** (Inhibierung der IL-8 Wirkung). Es inhibiert die **Expression von Adhäsionsmolekülen** wie L-Selectin und verhindert so die Adhäsion neutrophiler Granulozyten an Endothelzellen und damit die Migration der Leukozyten in das periphere Gewebe [82, 119, 135, 216, 227, 280, 341, 345, 383, 461, 526]. CRP spielt beim Hund eine Rolle bei der Migration der Mastzellen in entzündetes Gewebe während der APR. Die CRP-medierte Anziehung der Mastzellen könnte eine wichtige Rolle bei der Hypersensitivität und im Entzündungsprozess des Hundes spielen [148].

CRP beeinflusst die **Gerinnung**, indem es die Gerinnungskaskade aktiviert, die Expression von Gewebefaktor und *monocytic tissue factor* induziert, Thrombozyten inhibiert und Protein S inaktiviert. CRP kann durch Bindung an Phosphocholin des plättchenaktivierenden Faktors dessen Funktion inhibieren. Die CRP induzierte Aktivierung der Monozyten beeinflusst ebenfalls die Thrombozyten. CRP mediert weiterhin die *upregulation* von Plasminogen-Aktivator-Inhibitor und somit die Inhibition der Fibrinolyse [87, 120, 135, 162, 229, 237, 382, 403].

Auch bei autoimmunen Erkrankungen, wie dem systemischen Lupus erythematodes (SLE), spielt CRP eine Rolle. CRP erhöht die *Clearance* von nukleärem Antigen von apoptotischen und nekrotischen Zellen, welche potentielle Quellen von Autoantigenen sind. Auch durch Maskierung der Autoantigene vor dem Immunsystem kann CRP einer Autoimmunität vorbeugen [120, 297, 333, 403]. Beispielsweise kommen beim SLE trotz erhöhter IL-6 Konzentrationen oft niedrige CRP Werte vor [297, 382, 403, 448].

Inflamationsprozesse und insbesondere CRP spielen eine aktive Rolle bei der **Pathogenese der Arteriosklerose und arteriothrombotischer Erkrankungen** sowie der Initiierung, Progression und dem klinischen *outcome* dieser Erkrankungen [6, 47, 76, 147, 280, 455, 482, 483]. CRP wird während der aktiven Phase der Arteriosklerose durch glatte Muskelzellen und Makrophagen (unabhängig vom klassischen hepatischen Weg) in arteriosklerotischen Läsionen selbst produziert und wird während der Atherogenese in der arteriellen Intima und atherosklerotischen Plaques abgelagert, wo es verschiedene proinflammatorische, prooxidative und Arteriogenese fördernde Aktionen fördert [47, 174, 210]. Es ist möglich, dass minimal erhöhte CRP Level lokalisierten vaskulären Schaden durch Aktivierung von Komplement oder Induktion von proinflammatorischen Zytokinen verursachen [297, 382]. Das Potenzial, die Pathogenese bei Herz-Kreislauf-Krankheiten zu stimulieren, ist allerdings umstritten [76, 261, 382].

Konzentrationsverlauf während Entzündungen beim Hund

CRP korreliert mit dem Level des zirkulierenden IL-6 und damit mit der Entzündung. CRP steigt bzw. fällt schneller und dramatischer nach Erkrankung bzw. erfolgreicher Therapie als konventionelle

Entzündungsmarker [120, 382]. CRP ist das wichtigste *major* APP des Hundes, und kann im Rahmen verschiedener Erkrankungen (siehe Tab. 4) in kurzer Zeit, z.T. innerhalb von vier Stunden, von weniger als 1mg/l auf mehr als 100mg/l ansteigen. Die *peak*-Konzentrationen sind nach 24h bis 48h erreicht und die Proteine fallen während der Heilungsphase schnell wieder in den Referenzbereich ab. CRP steigt beim Hund schneller an als beim Menschen, bei dem der erste Konzentrationsanstieg erst nach sechs Stunden beobachtet werden kann. Die Halbwertszeit des humanen CRPs beträgt 19h [484]. Da für die meisten kaninen APP eine HWZ von 24h bis 48h angegeben wird, kann davon ausgegangen werden, dass CRP beim Hund eine ähnliche HWZ aufweist [99]. Die Höhe des CRPs wird ausschließlich durch dessen Syntheserate bestimmt, welche mit der Intensität der ablaufenden pathologischen Prozesse korrelieren. Daher ist CRP ein nützlicher Test, um die klinische Situation eines Tieres zum Blutprobenentnahmezeitpunkt zu beurteilen [76, 78, 82, 95, 126, 345].

Wie erwähnt hängt der Zeitpunkt der *peak*-Werte vom Stimulus ab. So zeigen Hunde mit chirurgischen Eingriffen nach 4h einen signifikanten Anstieg des CRPs und nach 24h *peak*-Konzentrationen [95]. Nach Infektion mit intrazellulären Mikroorganismen wie *Trypanosoma brucei* oder *Ehrlichia canis* erfolgt die CRP Reaktion erst vier bis 16 Tage *post infektionem* [352, 399, 433]. Auch das Ausmaß des Anstiegs variiert je nach Stimulus. So zeigen Hunde nach chirurgischem Trauma einen CRP-Anstieg um das 95-fache, während nach Injektion von Terpentinöl ein Anstieg um das 40- bis 50-fache beobachtet wird [82, 95, 251].

Bei anderen Spezies wie Rind oder Katze kommt CRP als normales Plasmaprotein vor, zeigt bei Erkrankungen lediglich einen minimalen Anstieg (siehe Tab. 2) und spielt in der Diagnostik bei diesen Spezies keine Rolle. Bovines CRP ist eher laktationsassoziiert [82, 128, 225, 227, 345, 383].

Biologischer Einfluss

Studien mit gesunden Hunden haben gezeigt, dass diese leicht höhere CRP Grundwerte als gesunde Menschen aufweisen [409].

Schlittenhunde sowie spanische Greyhounds zeigten nach extremen Anstrengungen (langandauernde Rennen, Rennen im untrainierten Zustand) erhöhte CRP und Cp Konzentrationen sowie erniedrigte Alb Konzentrationen, die metabolischen Stress suggerieren und mit systemischer Inflammation verwechselt werden können [236, 291, 441, 496, 519]. Auch Jagdhunde zeigen nach der Jagd einen signifikanten Anstieg von Hp, SAA und CRP [77]. In einer anderen Studie zeigte sich zwei Tage nach einem Kurzzeithochleistungsschlittenhunderennen zwar ein mild signifikanter Anstieg des CRPs, der Referenzbereich wurde aber nicht überschritten. Moderate Anstrengung beeinflusst die Interpretation von CRP Werten also nicht [495].

Es gibt jedoch große intraindividuelle Unterschiede bei den CRP Konzentrationen. Diese können zum Teil durch Umweltfaktoren beeinflusst werden [82, 367].

Wie auch bei den anderen APP kommt es zu keiner Veränderung der CRP Konzentration nach wiederholter venöser Blutentnahme, sc. Injektionen oder der Verabreichung von Placebos [82, 249, 298, 305, 514]. CRP ist außerdem unabhängig von der Nahrungsaufnahme.

In der Humanmedizin zeigen Raucher und Diabetes mellitus-Patienten erhöhte CRP Werte. Auch Geschlecht (Männer>Frauen) und Alter (alt>jung, reflektiert ggf. steigende Inzidenz subklinischer Pathologien) beeinflussen die CRP Level. Weiterhin existieren auch geographische Unterschiede in der CRP Grundkonzentration (Afroamerikaner>Nordeuropäer>Chinesen/Japaner). Familienstudien suggerieren, dass CRP Level auch erblich sind. Über 50% der individuellen Varianz der Baseline CRP Konzentrationen ist genetisch bedingt [43, 76, 120, 382, 448, 448]. In Mäusestudien zeigte sich eine testosteronabhängige konstitutive Expression von humanem transgenem CRP. Die Endotoxin induzierte Expression von CRP im Rahmen der APR war nicht von Testosteron beeinflusst [446, 448].

Nachweismethoden beim Hund

Für APP wie AGP, CRP, Hp und SAA werden kommerziell erhältliche *assays* angeboten. Meistens handelt es sich um Immuno*assays* mit spezifischen Antikörpern gegen das Zielprotein. Da bei vielen Proteinen Kreuzreaktionen zwischen den Spezies vorkommen, empfiehlt sich die Nutzung von speziesspezifischem Antiserum oder die gründliche Validierung des *assays* wenn Antiserum von anderen als der zu untersuchenden Spezies verwendet werden [227]. Für CRP kommen folgende Immuno*assays* infrage:

Immunoturbidimetrische *assays*

Die Immunoturbidimetrie macht sich die Formation von Ag-Ak-Komplexen in Lösung zu nutze. Die Komplexbildung kann spektrophotometrisch detektiert werden, da sich eine Ausflockung einstellt, welche durch Analyse der Licht-Transmission erfasst werden kann. Die Methode dauert nur wenige Minuten und ist für automatisierte Messungen geeignet. Obwohl aufgrund der strukturellen Unterschiede generell eine schwache oder keine Kreuzreaktion zwischen kaninem CRP und humanen CRP-Akn besteht, ist es gelungen, kommerziell erhältliche automatisierte humane immunoturbidimetrische Immuno*assays* für den Hund zu validieren. Da die Antiserum *batches* unterschiedliche Kreuzreaktivitäten mit dem Tierprotein aufweisen, können *batch-to-batch* Variationen vorkommen [82, 123, 124, 127, 144, 227, 246, 253, 345, 506, 512]. Es ist auch ein spezifischer automatisierter Test für Hunde [127, 191] sowie ein quantitativer *point-of-care* Test [214] kommerziell erhältlich. Desweiteren existiert ein hundespezifischer, automatisierter high-sensitivity CRP Test [190].

Ein kompetitiver Immuno*assay* wurde auch für Seehunde entwickelt [151]. Sowohl ein *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) als auch eine immunoturbidimetrische Methode existieren als Affen-spezifische CRP Messmethode [44, 221].

Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

Es existiert ein kommerziell erhältliches Hunde-spezifisches ELISA-Kit. Nachteile sind die schlechte Erhältlichkeit, die Notwendigkeit einer Spezialausrüstung zur Messdurchführung und die Laborintensität sowie eine schlechte Reproduzierbarkeit der einzelnen Messungen (*between-run* Ungenauigkeit) [82, 87, 124, 129, 214, 246, 345, 515, 517]. Ein ELISA wurde auch für die Detektion von CRP in Urin validiert [294].

Ein hundespezifischer *Point of care double Ak sandwich lateral flow immunoassay* für qualitative Messungen (positiv ab einem *cut off* von 5mg/l) wurde evaluiert [214, 387].

Slide (capillary) reverse passive latex agglutination test ((c)RPLA) /Kapillar-Latexagglutinationstest

Eine Modifikation der Immunturbidimetrie nutzt Ak, die mit Latexpartikeln überzogen werden, was in einer verbesserten Sensitivität und Stabilität der AK resultiert. Hier werden spezifische polyklonale KaninchenAk verwendet. Eine quantitative CRP Bestimmung kann innerhalb weniger Minuten erfolgen [82, 123, 124, 345, 450, 514–516]. Es existiert auch ein humaner semi-quantitativer *in-house* RPLA (CRP Konzentrationen < oder > 5mg/l), der für den Hund validiert wurde. Der Test bietet schnelle Resultate für die Praxis, es kommen jedoch falsch positive Resultate vor [250, 318].

Time-resolved immunofluorometric assay (TRFIA/TR-IFMA)

Hier werden polyklonale anti-kanine Ziegen Ak verwendet, welche mit einem Fluoreszenz-tag markiert sind. Somit ist die ermittelte Fluoreszenzintensität ein direktes Maß für die in der Probe enthaltenen CRP Mengen. Diese Methode hat ein niedrigeres *Detektion-Limit* und *Between-run* Ungenauigkeiten verglichen mit anderen CRP-Kits. Es handelt sich dennoch um einen präzisen und hoch sensitiven *assay* für CRP [96, 376, 377]. Die Methode wurde sowohl für Blut als auch für Liquor, Speichel und Ergüsse validiert [82, 299, 374, 375]. Es zeigen sich keine Interferenzen mit Hämolyse, Lipämie und Hyperbilirubinämie [373].

Elektroimmunoassay

Dieser *assay* arbeitet mit spezifischen KaninchenAkn gegen kanines CRP. Die untere Nachweisgrenze für CRP liegt bei 5 µg/ml, die obere bei 100 µg/ml [79].

Single radial immunodiffusion (SRID)

Es handelt sich um eine der einfachsten Methoden zur Proteinbestimmung. Die Methode basiert auf der Präzipitation von Ag-Ak Komplexen in Agarosegel. Es werden polyklonale Ak genutzt, da mehr als eine Bindungsstelle am Ag für die Komplexbildung benötigt wird. Platten werden mit Agarosegel, die Ak gegen das zu messende Protein (Ag) enthalten, präpariert. Die Probe wird in ein gestanztes Loch in der Agarose gegeben und diffundiert 24h bis 48h lang. Aufgrund der Ag-Ak Reaktion formiert sich ein Präzipitationsring, dessen Diameter abhängig ist von der Konzentration der Probe. Die Proteinkonzentration der Probe wird durch Vergleich mit Standards ermittelt [95, 124, 182, 227].

Magnetic permeability based two-site immunoassay

Der *assay* nutzt polyklonale anti-kanine CRP Ak, die kovalent an konjugierte superparamagnetische Nanopartikel und Kieselerde-Mikropartikel gebunden sind. CRP aus kaninen Blutproben wird durch die Messung des Anstiegs der magnetischen Permeabilität bestimmt. Es existiert ein *point-of-care* Test mit dieser Methode [202, 203, 214].

2.2.3.2 Haptoglobin

Hp wurde in der Humanmedizin erstmals 1940 von Polonovski und Jayle [389] als Komponente der α_2 -Globuline mit der Möglichkeit die Peroxidaseaktivität des Hb bei niedrigem pH zu stabilisieren, beschrieben. Es erhielt seinen Namen (griechisch *haptain* (=anziehen, fangen)) aufgrund der Fähigkeit Hb zu binden [128, 383]. Als Laborwert beim Menschen ist Hp der empfindlichste zur Verfügung stehende Marker einer Hämolyse.

Struktur

Bei Haptoglobin handelt es sich um ein Glykoprotein aus 2α - und 2β -Untereinheiten. Ein Vergleich der AS-Sequenzen von kaninem und humanem Hp zeigen 68% bzw. 85% Homologie bei den leichten bzw. schweren Ketten. Die leichte Kette besteht beim Hund aus 83 AS, die schwere Kette aus 245 AS. Die Untereinheiten sind in einer β - α - α - β Kette angeordnet, allerdings sind die $\alpha\beta$ - Ketten beim Hund (und der Katze sowie des Bären) nicht konvalent und nicht wie beim Menschen durch Disulfidbrücken verbunden. Ein weiterer struktureller Unterschied ist, dass die kanine α -Kette eine Glykolisierung sowie eine Oligosaccharid-bindende Sequenz aufweist. Aufgrund eines genetischen Polymorphismus kommt humanes Hp in drei Subtypen vor (Hp1-1, Hp1-2 und Hp2-2), die sich in der Kombination der α und β Ketten unterscheiden. Kanines (und equines) Hp ähnelt bezüglich des Molekulargewichts (81 kDa), Elektrophoreseverhaltens und der Primärsequenz humanem Hp 1-1, während bovines Hp humanem Hp 2-2 ähnelt. Es existiert beim gesunden Hund nur ein kaniner Hp Phänotyp mit charakteristischem Mikroheterogenitätsmuster [82, 112, 117, 128, 227, 267, 273, 339, 339, 345, 383]. Hp hat vier N-Glykolisierungsstellen an der β -Kette. Beim Menschen wurde eine **abnormale Glykolisierung** als Konsequenz von Lebererkrankungen, Neoplasien und immunologischen Erkrankungen beobachtet. Bei Tumorerkrankungen ändert sich das Glykolisierungsprofil verschiedener APP (neben Hp auch AGP, Kininogen, α -1 Antichymotrypsin), so kommen häufig erhöhte Sialylierung und Fucosylierung vor. Das veränderte Glykolisierungsmuster geht nicht nur mit Funktionsveränderungen (erhöhte Stabilität, veränderte Rezeptor-Ligand-Interaktionen) der APP einher, es wird auch eine Rolle in der Tumorgenese diskutiert. Auch beim Hund variiert das Glykolisierungsmuster des Hp bei verschiedenen entzündlichen, autoimmunen (v.a. chronisch progressive Hepatitis und verschiedene Formen der Anämie) und neoplastischen Erkrankungen,

sodass das in Zukunft vielleicht bei der Differenzierung der Erkrankungen, als Verlaufskontrollen und als Tumormarker genutzt werden kann [12, 13, 82, 112, 227]. Momentan ist dies noch nicht möglich, da das Glykolisierungsmuster nur mühevoll z.B. massenspektrometrisch bestimmt werden kann [126].

Synthese

Die Synthese wird durch IL-6 Typ Zytokine mediiert und synergistisch durch Glukokortikoide verstärkt [238, 497]. Es existieren speziesspezifische Unterschiede bezüglich der Mediatoren, die für die Hp Stimulation benötigt werden. Die Hp Synthese findet beim Hund hauptsächlich in der Leber statt [9, 384]. In adventitiellen Fibroblasten von Kaninchenarterien konnte Hp mRNA nachgewiesen werden [252]. Auch Lungengewebe, Mamma, Magendarmtrakt, Fettgewebe, Milz und Nieren können niedrige Mengen Hp produzieren [82, 116, 227]. Es gibt aber auch Meinungen, dass diese Gewebe lediglich in den Katabolismus der Hp-Hb-Komplexe oder des Hp involviert sind [384].

Funktion

Die Hauptfunktion des Hp ist freies **Hb im Blut zu binden**. Die Affinität von Hp für Hb ist eine der höchsten bei den Transportproteinen. Extrazelluläres Hb wirkt toxisch und proinflammatorisch indem es Häm und elementares Fe freisetzt. Beide Stoffe werden leicht oxidiert. Das Resultat ist oxidativer Stress durch die Bildung von *reactive oxygen species* (ROS), Vasokonstriktion und Vaskulopathie. Durch die Bindung des freien Hb, minimiert Hp den oxidativen Schaden sowie die vaskuläre Dysfunktion inkl. Hypertension und Tubulusschaden, der mit der Hämolyse einhergeht. Der Hp-Hb-Komplex wird von Makrophagen durch ihren CD163 Rezeptor registriert und danach phagozytiert. CD163 bindet lediglich den Komplex aus Hp und Hb [82, 116, 227, 233, 264, 281, 295, 345, 383]. Die Hb-Hp-Komplexe werden durch das retikuloendotheliale System (RES) in die Leber transportiert und durch Kupferzellen metabolisiert. Vaskulären Schäden wird weiterhin dadurch vorgebeugt, dass Hb in einem hochmolekularen Komplex, der nicht in den subendothelialen Spalt gelangen kann, sequestriert wird. In der Humanmedizin wird der Nutzen einer therapeutischen Applikation von Hp zur Therapie von Komplikationen einer akuten oder chronischen Hämolyse diskutiert. Durch die Hb-Bindung wird die Verfügbarkeit von Häm und dessen Fe für die bakterielle Nutzung reduziert, wodurch Hp einen **bakteriostatischen Effekt** erreicht [82, 116, 121, 227, 233, 345, 383].

Weitere Funktionen von Hp sind **Immunmodulation und zum Teil antiinflammatorische** Effekte. Sie werden durch die Bindung von Hp an den CD11/CD18 Rezeptor von Effektorzellen mediiert. Hp hat einen inhibitorischen Effekt auf die Chemotaxis, Phagozytose, *respiratory burst* und bakterizide Aktivität von Granulozyten. Hp scheint die Mastzellproliferation zu inhibieren, spontaner Reifung von epidermalen Langerhans Zellen vorzubeugen und die T-Zellproliferation zu supprimieren [21, 22, 82, 116, 216, 227, 345, 383, 406]. Neben der starken Suppression der T-Zellproliferation übt Hp einen

inhibitorischen Effekt auf die Th-2-Zytokinfreisetzung aus. Hp spielt eine Rolle in der Modulation des Gleichgewichts der Lymphozyten vom Typ Helfer-1 (Th1)/zu Typ Helfer-2 (Th2) und fördert die Th1 Aktivierung [21]. Es unterstützt die Differenzierung von B- und T-Zellen zur Herstellung der Homöostase nach Reaktion auf Antigenstimulation [112]. Hp antagonisiert *in vitro* und im Tiermodell den LPS Effekt, indem es die monozytäre Produktion von TNF- α , IL-10 und IL-12 supprimiert. Der Anstieg der Hp Konzentration nach einer APR kann somit einen Rückkopplungsmechanismus darstellen, der den Schweregrad der Zytokinfreisetzung eindämpft und vor Endotoxineffekten schützt [22].

Konzentrationsverlauf während Entzündungen beim Hund

Es handelt sich beim Hund um ein moderates APP, das um das zwei- bis dreifache als Antwort auf Inflammation, Infektion oder Trauma ansteigt. Im Serum gesunder Hunde kommt Hp nur in niedrigen Konzentrationen vor und *peak*-Level werden fünf Tage nach Chirurgie oder Trauma erlangt. Die HWZ wird beim Tier mit zwei bis vier Tagen angegeben. Bei Leishmaniosepatienten kommt es zu einem 5fachen Anstieg und nach chirurgischem Trauma zu einem zwei -bis dreifachen Anstiegs des Haptoglobins (siehe Tab. 4) [82, 95, 306, 317]. Es existieren viele Studien die Hp als diagnostischen und prognostischen Parameter beim Hund aufzeigen sowie die Eignung des Proteins zur Beurteilung des Therapieerfolgs nachweisen [95, 306, 317, 345, 439].

Biologischer Einfluss

Glukokortikoide induzieren die Expression von kaninem Hp (und des CD163 Rezeptors). Sowohl nach Therapie mit Kortikosteroiden (antiinflammatorische und immunsuppressive Dosierungen und mit unterschiedlichen Präparaten) als auch bei Patienten mit Hyperadrenokortizismus (HAC) zeigen sich erhöhte Hp Konzentrationen. Endogene Glukokortikoide stimulieren die Hp Stimulation nicht in gleichem Maße wie exogen zugeführtes Prednisolon. Die Höhe des Anstiegs korreliert mit der Dauer und dem Ausmaß der Glukokortikoidapplikation, der Mechanismus ist unklar. Die Hp Induktion nach Glukokortikoiden kann als therapeutische Antwort und Teil der antiinflammatorischen Wirkung der Steroide interpretiert werden. Die Reaktion von Hp auf Glukokortikoide ist bei anderen Spezies nicht dokumentiert, könnte aber in Beziehung zur steroidinduzierten alkalischen Phosphatase stehen, die ebenfalls spezifisch für kanine Hepatozyten ist. Die Höhe des Anstiegs ist identisch mit dem während entzündlicher Reaktionen. Das Wissen über eine vorhergegangene Glukokortikoidtherapie ist wichtig bei der Interpretation der Hp Werte [82, 83, 126, 181, 227, 303, 316, 317]. Die Glukokortikoidresponsivität des Hp ist zwar ein Nachteil beim Monitoring von entzündlichen Erkrankungen, kann aber ggf. in Zukunft als Screening Methode für den Hyperadrenokortizismus verwendet werden [227, 303]. Einen Anstieg der Hp Konzentrationen sieht man auch nach der

Applikation anderer Medikamente wie Anthelmintika, Phenobarbital oder Meglumine Antimoniate [82, 298, 303, 465].

Hämolytische Anämien führen zu niedrigen Hp Konzentrationen, da das aus den Erythrozyten freigesetzte Hb an Hp bindet und dieses sättigt [96, 128, 181, 383]. In der Humanmedizin wurde bei Patienten mit **reduzierter Leberfunktion** eine Hypohaptoglobulinämie beobachtet, was auf eine reduzierte Synthesekapazität der APP zurückgeführt wurde [383]. Dies ist auch für den Hund beschrieben [97].

In der Humanmedizin weist Hp wie erwähnt **einen genetischen Polymorphismus** mit zwei verschiedenen Allelen (Hp1 und Hp2) auf, die in drei Phenotypen (Hp 1-1, Hp 2-1 und Hp 2-2) resultieren. Die drei Phenotypen des Hp weisen sowohl qualitative als auch quantitative Unterschiede auf. Die Frequenz der Gene variiert weltweit geographisch. Hp Phänotypen sind in der Humanmedizin mit der Prävalenz verschiedener Erkrankungen verbunden. Diese Assoziationen können durch funktionelle Unterschiede zwischen den Subtypen und der Bindungskapazität von Hb sowie der Clearance rate aus dem Plasma erklärt werden. Es existieren aber auch verneinende oder gegensätzliche Berichte bezüglich der Erkrankungsassoziation. [13, 25, 27, 75]. Beispielsweise hatten Patienten mit Hp 2-2 Phänotyp verglichen mit einer Kontrollgruppe ein signifikant erhöhtes Risiko für Hypertension und mit damit assoziierten Herzerkrankungen [444]. Hp2-2 ist unabhängig und negativ assoziiert mit einer abgeschwächten Herzratenvariabilität bei Patienten mit Koronararterienerkrankung, was die schlechtere Prognose von Patienten mit Hp 2-2 Subtyp erklärt [90].

Nachweismethoden beim Hund

Zur Bestimmung des Hp werden Messmethoden verwendet, welche biochemische anstelle immunologischer Aktivitäten nutzen. Vorteile bei der Messung mit biochemischen Methoden ist, dass keine Speziespezifität besteht und automatisierte Messungen vorgenommen werden können [123].

Spektrophotometrische assays

Bei der Spektrophotometrie handelt es sich um einen biochemischen *assay*.

Hier wird die hohe Affinität von Hp für Hämoglobin sowie die nachfolgende Bewahrung der Hb-Peroxidaseaktivität bei niedrigem pH genutzt. Das an Hp gebundene Hb weist eine konstante **Peroxidaseaktivität** bei saurem pH auf, welche spektrophotometrisch detektiert und quantifiziert werden kann. Die Peroxidaseaktivität ist direkt proportional zu der Hp Konzentration der Probe. Es besteht auch die Möglichkeit, die durch die Hp-Hb-Komplexe veränderte **Absorptionscharakteristika** von Hb in Proportion zu der Hp Konzentration in der Probe zu messen [82, 123, 124, 130, 227, 305, 368].

ELISA

Immunoassays

Durch die strukturellen Unterschiede ist es schwierig kanines (oder felines) Hp mit humanen Akn nachzuweisen. Der Nachweis gelingt nicht, wenn der Ak einen speziellen Bereich (die Abschnitte der humanen Disulfidbrücken, welche die α - β -Ketten verbinden) als Ag erkennt [232]. Weiterhin ist zu bedenken, dass Hp Konzentrationen sowohl beim gesunden als auch erkrankten Hund höher sind als bei anderen Spezies (z.B. Mensch oder Rind). Daher müssen kanine Proben bei multispezies *assays* häufig verdünnt werden, um im dynamischen Bereich des *assays* zu liegen [82, 124]. Kreuzreaktivität kann zwischen den *batches* und den individuellen Hunden variieren [29]. Speziesspezifische *assays* sind zu bevorzugen [82].

Es wurden allerdings humane *assays*, (**Nephelometrischer assay**), die auf der Messung der Präzipitation von Ak-Ag-Komplexen beruhen, mit Erfolg beim Hund und Pferd eingesetzt. Da diese *assays* von der Kreuzreaktivität gegen humanes Hp gerichtetes Antiserum abhängen, ist eine sorgfältige Validierung vor Gebrauch erforderlich [82, 124, 232, 501].

Es kommt auch eine **immunoturbidimetrische Methode** mit Anti-humanen Akn vor, die sich zur automatisierten Messung eignet [96, 458, 501].

Parra et al. entwickelten 2005 einen **time-resolved fluorometry based immunoassay**, der die Bestimmung von kaninem Hp aus Serum erlaubt. Proben die in Vollblut gemessen wurden, waren niedriger als im Serum gemessene. Hp Konzentrationen aus Speichel korrelierten wenig mit den im Serum bestimmten Konzentrationen, sie waren aber bei Hunden mit pathologischen Prozessen höher als bei gesunden Hunden. Der Zusatz von frischem Hämolysat zu den Serumproben beeinflusste die Hp Konzentration nicht [378].

Weitere Testmethoden basieren auf der Bindung von Hp an **CyanmetHb** und speziesspezifischer **radial immunodiffusion**, wobei die Ergebnisse der letztgenannten Technik laut Batchelor et al. nicht immer geeignet sind [29, 130, 439].

2.2.3.3 α 1-saures-Glykoprotein

Synonyme für α 1-saures-Glykoprotein (AGP) sind Seromuroid oder Orosomuroid (oros (griech.)= plasma; mucus (lat.)= Schleim). AGP ist die Hauptproteinkomponente von Seromuroid, der Plasmafraktion, die am stärksten resistent gegen Säurepräzipitation ist [128, 192].

AGP gehört zur Lipocalinfamilie, einer Gruppe von extrazellulären Proteinen, die spezifisch hydrophobe Moleküle binden. Innerhalb dieser Gruppe gehört AGP zur Subfamilie der Immunocaline, welche Proteine mit immunmodulatorischen Eigenschaften umfassen. Bei allen bisher untersuchten Säugetieren ist AGP ein APP [192, 371].

Struktur

Kanines AGP wurde 1987 gereinigt und biochemisch charakterisiert [110]. AGP ist ein hoch glykosyliertes Protein mit einem Molekulargewicht von 43kDa, einem niedrigen isoelektrischen Punkt (pI) von 2,7 bis 3,8 und einem hohen Kohlenhydratanteil von 40,9% bis 45%. Die verzweigten Kohlenhydrat-Seitenketten sind zusammengesetzt aus verknüpften Monosacchariden wie Mannose, Galaktose und Glukose. Die finale Gruppe der Kette bildet normalerweise Sialinsäure. Diese am Ende liegende negativ geladene Gruppe führt zum niedrigen pI [82, 142, 192, 227, 522]. Der Kohlenhydratanteil macht AGP sehr löslich, was beim Nachweis genutzt wird. Das Glykolysierungsmuster ist sehr variabel und variiert sowohl während der APR, speziesspezifisch als auch bei verschiedenen Erkrankungen. Es kann während der APR u.a. zu einer erhöhten Sialysierung des Proteins kommen. Auch die Verzweigungen sind variabel [123, 128, 192, 278, 371]. Beim Hund existieren zwei hydrophobe Ligandenbindungsstellen: eine basische Ligandenstelle und eine Steroidhormonbindungsstelle. Diese überlappen und beeinflussen sich gegenseitig [310]. AGP gehört zu den α 1-Globulinen [96, 522].

Synthese

Proteinsynthese und Glykosylierung werden unabhängig sowohl durch Zytokine (v.a. IL-1 β und TNF, aber auch IL-6) als auch Glukokortikoide reguliert [142, 192].

AGP ist ein APP, das hauptsächlich in Hepatozyten produziert wird. Allerdings wurde auch von extrahepatischer Synthese berichtet. Lymphozyten (was die hohen Serumspiegel von AGP bei Hunden mit Lymphom erklärt) und andere Leukozyten, ebenso wie Darm-, Nieren-, Herz-, Endothel- und Prostatazellen können AGP produzieren [82, 142, 192].

Funktion

Die biologische Funktion des Proteins ist noch nicht völlig geklärt, obwohl zahlreiche *in vivo* und *in vitro* Aktivitäten beschrieben wurden. Es scheint zwei Hauptfunktionen zu haben: Immunmodulation und Medikamentenbindung [142, 192].

Bei AGP handelt es sich um eine **antiinflammatorische und immunmodulatorische** Substanz, da AGP die Neutrophilenaktivität und -phagozytose hemmt. Es inhibiert die chemotaktische Antwort der Neutrophilen auf manche Chemokine sowie den oxidativen Metabolismus der Neutrophilen. Dadurch, dass die lokale AGP Konzentration in Anwesenheit von Leukozyten steigt, entsteht ein Verstärkungskreislauf. AGP weist Anti-Komplement-Aktivität auf und erhöht die Sekretion des IL-1 Rezeptor Antagonisten durch Makrophagen. Es inhibiert die Lymphozytenproliferation und -ausreifung (T-Zellen>B-Zellen) sowie die Aktivität der natürlichen Killerzellen. Die Plättchenaggregation wird ebenfalls von AGP dosisabhängig inhibiert und AGP verlängert die inhibitorische Aktivität von Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 [82, 142, 192, 345, 461].

Die **Produktion der antiinflammatorischen Zytokine** durch periphere Blutleukozyten wird durch AGP moduliert. Wie erwähnt erhöht es die Sekretion des IL-1 Rezeptor Antagonisten durch Makrophagen. Da IL-1 die Produktion von AGP fördert, kommt es zu einem negativen Feedback. *In vitro* ist AGP aber auch in der Lage, in Monozyten die Expression anderer sowohl pro- als auch antiinflammatorischer Zytokine (z.B. IL-1, IL-12) sowie des löslichen TNF-Rezeptors zu induzieren. AGP potenziert den Effekt von suboptimalen Konzentrationen an LPS bezüglich der Induktion von IL-1 β , IL-6 und der TNF Sekretion. Im Tiermodell konnte allerdings ein neutralisierender Effekt auf die TNF- α Wirkung festgestellt werden (siehe unten). Der Netto-Effekt der Stimulierung der pro- und antiinflammatorischen Zytokinproduktion ist schwer voraussagen. Die synergistische Wirkung auf die Stimulierung der proinflammatorischen Zytokine weist dabei auf einen Verstärkungseffekt der Entzündungsantwort hin, wohingegen es in Abwesenheit von LPS eine Tendenz zur *down*-Regulation der entzündlichen Reaktion gibt [192, 227, 283, 345, 371, 461].

Durch posttranslationale Veränderungen der Glykolysierung und Erwerb von Sialyl-Lewis-x enthaltenen Glycanen kann AGP an Selectine von Leukozyten und Endothelzellen binden und so die transepitheliale Migration der Leukozyten ins Gewebe unterbrechen [227, 277, 461].

AGP wird aufgrund seiner hohen Mengen an Sialinsäureresten, die als unspezifischer Kompetitor an Zelloberflächen die Bindung und Invasion infektiöser Agenzien blockieren können, als **unspezifisch anti-infektiöses Agens** betrachtet. AGP inhibiert beispielsweise die Möglichkeit von *Plasmodium falciparum* Erythrozyten zu infizieren. Auch das Anheften und die Internalisierung von *Mycoplasma pneumoniae* durch humane Alveolarmakrophagen wird durch AGP inhibiert [192].

In vitro zeigte humanes und kanines AGP einen antioxidativen Effekt, wenn Erythrozyten oxygenen Sauerstoffradikalen ausgesetzt wurden. Der antioxidative Effekt könnte durch direkte Bindung der freien Radikale bedingt sein. AGP fördert die Mikrozirkulation und unterstützt während pathologischer Konditionen die Passage der Erythrozyten durch Kapillaren und stabilisiert die Erythrozytenmembran [309].

AGP hat auch einen positiven Effekt auf die Wundheilung. So stimuliert es das Fibroblastenwachstum und interagiert mit Kollagen [192].

Auch *in vivo* zeigen sich im Tierexperiment einige weitere interessante Effekte von AGP [142, 192]. So zeigt AGP einen Schutz gegen TNF-induzierte Letalität und Leberschäden, bindet direkt an LPS und neutralisiert dessen Toxizität, indem es Makrophagen zur Phagozytose der Komplexe aktiviert [192, 283, 345, 461].

AGP ist ein Cofaktor in der Lipoprotein-Lipasereaktion und erhöht die Lipolyse [192].

Verschiedene Parameter können die AGP Funktion beeinflussen. Erstens kann AGP abhängig vom interagierenden Zelltyp verschiedene Aktivitäten annehmen. AGP kann wie bei neutrophilen

Granulozyten beschrieben, verschiedene Aktivitäten bei nur einem Zelltyp auslösen. Weiterhin kann die Aktivität von AGP auf einen bestimmten Zelltyp vom Stimulus abhängen. Zweitens haben die Glykolysierungsstrukturen einen starken Einfluss auf die AGP Aktivität. Die Glykolysierung wiederum wird vom Stimulus bestimmt. Drittens sind einige AGP Effekte konzentrationsabhängig: niedrige und hohe AGP Konzentrationen können gegensätzliche Effekte auslösen [192].

Weiterhin kommt es durch AGP zu **Bindung und Transport** zahlreicher basischer und neutraler lipophiler sowie saurer Moleküle, sowohl exogenen (z.B. Phenobarbital) als auch endogenen Ursprungs [82, 142, 142, 192, 205, 275]. Erhöhte AGP Konzentrationen können also im Rahmen der APR die Konzentration der freien Medikamente und somit die Pharmakokinetik stark beeinflussen [193, 204]. Das Ausmaß der AGP Medikamentenbindung ist speziesspezifisch und auch vom Ausmaß des Anstiegs im Rahmen einer APR abhängig. AGP hilft auch die totale Medikamentenbindungskapazität während der APR aufrechtzuerhalten, da die Albuminkonzentration im Blut (das wichtigste medikamentebindende Protein) sinkt [345]. AGP bindet an eine Reihe endogener Metaboliten wie Heparin, Histamin, Serotonin, Steroide und Katecholamine. Die Möglichkeit niedermolekulare Liganden wie toxische Lectine oder Endotoxine zu binden, ergibt zumindest die mutmaßliche Möglichkeit, dass AGP eine zusätzliche Rolle im angeborenen Immunsystem und bei der Modulation der Immunreaktion annimmt [142, 205, 227, 345].

Konzentrationsverlauf während Entzündungen

AGP ist bei den meisten Spezies (außer der Katze) ein moderates APP und so eher als *major* APP geeignet, auch chronische Inflammationszustände anzuzeigen [123, 227]. Während stattfindender Entzündungen steigen die *mean* AGP Konzentrationen beim Hund von 0,47 auf 2,85 g/l [111].

AGP hat beim Menschen eine HWZ von 5,5 Tagen. In einer neueren Studie lag die HWZ unter experimentellen Bedingungen einer akuten Entzündung beim Hund bei 304,4h [227, 269].

Biologischer Einfluss

Während einer Phenobarbitaltherapie kommt es auch bei therapeutischen Dosen zu einem signifikanten, dosisabhängigen Anstieg (vierfach) der AGP Konzentration [3, 193], während andere Medikamente, wie z.B. Doxorubicin, keinen Einfluss auf die Höhe der AGP Werte haben [82, 361]. Medroxyprogesteronacetat sorgt beim Beagle nur für einen ggr. Anstieg des AGPs (bis 400mg/dl), während die Plasmakonzentration von AGP nach einer chronischen Rifampingabe beim Beagle signifikant um das dreifache ansteigt [4]. Da AGP ein Bindungsprotein für verschiedene Medikamente ist, beeinflusst die Erhöhung des AGP während beispielsweise Phenobarbitaltherapie die Pharmakokinetik zusätzlich verabreichter Medikamente [193, 303].

AGP erwies sich als nützlich zur Unterscheidung von gesunden sowie klinisch und subklinisch erkrankten Hunden bei der Untersuchung von Tieren für Versuchszwecke [363].

Nachweismethoden

Präzipitation mit Perchlorsäure

AGP ist resistenter gegen **Säurepräzipitation** als die meisten anderen Proteine, sodass nach Präzipitation mit Perchlorsäure die Messung der übrig gebliebenen Proteine dem AGP Gehalt nahe kommt [82, 124, 131].

Immunoturbidimetrie

Immunoturbidimetrische canine und feline *assays* wurden entwickelt [40, 109, 271].

***Single radial immunodiffusion (SRID)* (siehe auch 2.2.3.1)**

Es handelt sich um die gängigste Methode, um AGP Konzentrationen zu bestimmen. Es existieren kommerziell erhältliche speziesspezifische Agarosegelplatten, die mit anti-spezies AGP Kaninchenserum imprägniert sind. Diese sind für Hund und Katze erhältlich [82, 123, 131, 363, 522].

2.2.3.4 Weitere Akute-Phase-Proteine

Serum Amyloid A (SAA)

SAA ist ein hydrophobes Serumprotein [511]. Beim Menschen wurden vier Isoformen als unterschiedliche Genprodukte identifiziert. Von diesen spielen SAA 1 (70% des SAA im Plasma) und SAA 2 eine Rolle als APP. Sie sind Vorläufer der Amyloidfibrillen, die nach proteolytischer Spaltung des SAA 1 und SAA 2 entstehen. SAA 3 wird in extrahepatischem Gewebe (Makrophagen, Endothelzellen und glatte Muskelzellen) während der APR produziert. Erhöhte Konzentrationen finden sich in Lunge, Adipozyten, Darm, Knochenmark, Niere, Ovarien und Milchdrüse [315]. Im Gegensatz dazu wird SAA 4 während physiologischer Zustände in normalen Konzentrationen produziert und steigt im Rahmen der APR nicht an [511]. Dieses konstitutiv exprimierte Protein ist ein Apolipoprotein im *high-density* lipoprotein (HDL). Auch beim Tier kommen verschiedene Isoformen vor. Beim Rind, Pferd und Schaf wurde eine Milch-spezifische Isoform isoliert, die lokal in der Milchdrüse bei Mastitiden produziert wird und dem humanen SAA 3 entspricht [134, 137, 218, 227, 315, 383, 499, 505, 511]. Eine SAA Produktion wurde auch beim Tier in extrahepatischen Geweben wie Darm, Niere, Lunge, Synovia, Knochenmark und Adipozyten nachgewiesen [82, 227].

Der diagnostische Einsatz von SAA in der Tiermedizin wird beschränkt durch Schwierigkeiten in der Reinigung und Quantifizierung des Proteins. Diese bestehen, da SAA ein hydrophobes Apolipoprotein ist, das im Serum in Komplexen mit HDL vorliegt. Humanes und kanines SAA ähneln sich in ihrer Primärsequenz sehr und unterscheiden sich nur durch acht zusätzliche AS beim Hund im zentralen Teil des Proteins [82, 425, 513].

SAA ist der Vorläufer von Amyloid Protein A, dem Hauptprotein des α -Amyloids und somit potentiell an der Pathogenese der Amyloidose und anderen chronisch entzündlichen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis beteiligt. Die reaktive Amyloidose resultiert während chronischer Entzündungen aus einer dauerhaften Erhöhung von SAA. Allerdings entwickeln nicht alle Individuen mit chronischen Entzündungen eine reaktive Amyloidose, aber eine reaktive Amyloidose kann nicht ohne erhöhte SAA Werte entstehen. Die effektivste Methode um der progressiven Amyloidablagerung vorzubeugen, ist die Entzündungsaktivität zu reduzieren [82, 123, 277, 370, 371, 511]. Der Zusammenhang zwischen SAA und der familiären Amyloidose ist sowohl bei Shar Peis, Siamesen und Abessinern noch nicht vollständig geklärt [126, 227].

SAA hat viele Funktionen, die noch nicht vollständig verstanden sind. Es hat pro- und antiinflammatorische Eigenschaften [511]. SAA ist am Lipidmetabolismus und dem Lipidtransport (Rücktransport von Cholesterol vom Gewebe bzw. sterbenden Zellen zu den Hepatozyten) im Körper beteiligt. Im Rahmen der APR wird als Aufgabe des SAA diskutiert, die Elimination des HDL und damit auch der mit HDL-assoziierten Entzündungsprodukte zu beschleunigen. SAA induziert die Calciummobilisation durch Monozyten. Weiterhin ist es beteiligt an der chemotaktischen Anziehung von Entzündungszellen (Monozyten, polymorphkernige Neutrophile und T-Zellen) in das Entzündungsgebiet. Es hemmt jedoch andererseits die Entzündung, indem es die Proliferation von Lymphozyten sowie von Endothelzellen und die Myeloperoxidasefreisetzung aus Phagozyten sowie ihre direkte Migration unterdrückt. SAA inhibiert die T-Lymphozytenadhäsion an extrazelluläre Matrixproteine, die Neutrophilendegranulation sowie die Freisetzung von Sauerstoffradikalen (*oxidative burst*) und die Thrombozytenaktivierung und -agglutination. Es hat zudem einen hemmenden Einfluss auf Fieber sowie die Synthese von Prostaglandin E₂ und Antikörpern. Weiterhin induziert es extrazelluläre matrixabbauende Enzyme (Matrix-Metalloproteinasen, Kollagenasen) und einige proinflammatorische Zytokine. Zudem wird SAA eine direkte antibakterielle Aktivität zugeschrieben, da es an die Oberfläche gramnegativer Bakterien binden kann, was zur Opsonierung führt [82, 154, 180, 227, 345, 381, 383, 469, 474, 492, 511]. Die Milch-Isoform des SAA 3 im Kolostrum stimuliert die Mucinproduktion aus Darmzellen und hilft somit die Neonaten vor bakterieller Kolonisation zu schützen. Auch intestinale Epithelzellen können nach Zytokinstimulation lokal SAA freisetzen, sodass SAA eine Rolle bei den lokalen Abwehrmechanismen des Gastrointestinaltrakts gegen Endotoxine spielt [315, 511].

Bei den meisten Tieren ist SAA ein *major* APP. SAA ist vor allem bei Nutztieren ein wichtiger Infektionsindikator im frühen Stadium. Beim Menschen hat SAA eine HWZ von einem Tag [82, 123, 227, 345, 371].

Fibrinogen

Fb ist ein β -Globulin und Glykoprotein, das im Plasma aller Vertebraten vorkommt und ca. 5% der Plasmaproteine ausmacht. Es handelt sich um ein großes (Molekulargewicht von 340 kDa), heterohexameres Protein, welches aus je zwei α -, zwei β - und zwei γ -Untereinheiten sowie einem Glykoprotein, das aus 3% bis 5% Kohlenhydraten besteht, zusammengesetzt ist. Die Untereinheiten sind durch Disulfidbrücken verbunden [82, 118, 227, 237]. Fb wird hauptsächlich in der Leber produziert, es wurden aber auch andere Fibrinogenquellen wie z.B. Epithelzellen beschrieben. Diese werden ebenfalls durch IL-6 aktiviert [179, 237]. Fb ist der zirkulierende Vorläufer des Fibrins, Bestandteil der Gerinnungskaskade und führt zur Plättchenaggregation [128]. Es führt neben dem Gerinnungsprozess zur Endothelzelladhäsion, -verbreitung und -proliferation. Fb bzw. Fibrin erhöht die Neutrophilen- und Monozytenadhäsion und fördert die Zytokinsynthese und die Synthese des *monocyte chemoattractant protein 1* [277]. Fb bindet auf der Zelloberfläche von migrierten Phagozyten an CD11/CD18 Integrinen, was eine Kaskade von intrazellulären Signalen auslöst, die zu einer vermehrten Degranulation, Phagozytose, Ak-abhängigen zellulären Toxizität und Aufschub der Apoptose führt [345, 407].

Fb ist schon lange als APP bekannt. Als APP stellt es mit seinem Fibrinmaschenwerk eine Barriere dar und verhindert eine Streuung der Entzündungsursache und bildet das Gerüst, an dem neues Gewebe wieder aufgebaut wird. Bezüglich der Proteinmasse macht es den größten Anteil der synthetisierten APP aus. Während der APR müssen zwölf Gramm Muskelgewebe abgebaut werden um die AS für die Synthese von einem Gramm Fb bereitzustellen [227]. Allerdings zeigt Fb beim Hund während entzündlicher Vorgänge nur einen zwei- bis vierfachen Anstieg. Da dies im Vergleich zu anderen APP ein eher geringer und auch langsamer Anstieg (moderates APP) ist und Fibrinogenlevel auch nicht immer mit dem Schweregrad der Entzündung korrelieren, spielt die Bestimmung von Fb weiterhin eher eine Rolle bei der Diagnose der disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) und der Hyperfibrinolyse. Erniedrigte Fibrinogenlevel können im Rahmen der DIC Hinweise auf eine Blutungsgefahr sein oder im Rahmen von genetischen Erkrankungen, die die hepatische Fibrinogensynthese beeinflussen (A-, Hypo-, Dysfibrinogenämie), Leberversagen oder einer thrombolytischen Therapie auftreten [82, 87, 227, 329]. In einer Studie mit 161 Hunden mit Entzündung war der prädiktive Wert eines positiven oder negativen Tests für Hp oder Cp vergleichbar oder besser als der von Fb [439]. Neben dem geringen Anstieg von Fb bei entzündlichen Vorgängen wird Fb bei bestimmten Erkrankungen verbraucht und sollte deswegen nur zusammen mit anderen APP oder dem Leukogramm beurteilt werden [87, 287]

Ceruloplasmin

Es existieren keine Studien zur Struktur von kaninem Cp, humanes Cp hat ein Molekulargewicht von 151 kDa und besteht zu 0,34% aus Kupfer. Auch Cp kann extrahepatisch z.B. im respiratorischen Epithel synthetisiert werden [82, 128, 345]. Bei humaner rheumatoider Arthritis enthält Synovia undisproportional mehr Cp im Vergleich zu anderen Plasmaproteinen, was eine lokale Synthese reflektieren könnte [166].

Cp ist ein Kupfertransportmolekül (von der Leber in andere Organe). Kupfer ist nötig für Wundheilung, Kollagenformation und –reifung. Cp besitzt eine hohe Oxidaseaktivität, wobei besonders Eisenionen und zahlreiche aromatische Amine und Phenole als Substrate dienen. Toxisches Fe (Fe^{2+}) wird in die nicht toxische Form (Fe^{3+}) oxidiert. Fe^{3+} kann dann an Transferrin und Ferritin gebunden werden und steht dann für das Wachstum und die Vermehrung von Bakterien nicht mehr zur Verfügung. Cp schützt Gewebe vor (Eisen-medierten) freien Radikalen und ist in verschiedene andere antioxidative und zytoprotektive Aktivitäten involviert. Unter anderem dient Cp auch als intravasale Superoxiddismutase. Cp ist in der Lage, die Autooxidation von Lipiden zu inhibieren. Auch sorgt Cp für eine reduzierte Anzahl an Neutrophilen, die am Endothel angreifen [82, 128, 166, 345, 410].

Es handelt sich beim Hund um ein moderates APP. Der Anstieg ist höher und erfolgt früher als beim Mensch während einer APR und erreicht beim Hund seine *peak*-Konzentrationen (zweifach) vier Tage nach chirurgischen Eingriffen [82, 95]. Beim Menschen zeigt sich häufig keine oder nur eine geringe Stimulation um 50% [94, 128, 385].

Proteinase-Inhibitoren (Serpine)

Proteinase-Inhibitoren, wie **α_1 -Antitrypsin (α_1 -Proteinase-Inhibitor)**, **α_1 -Antichymotrypsin** und **α_2 -Makroglobulin**, hemmen Proteinasen, die durch einen Gewebeschaden freigesetzt werden. Dadurch wird der Gewebeerstörung und Fibrinolyse durch Proteinasen am Entzündungsort entgegengewirkt. Hauptsächlich regulieren diese Proteine beim Menschen die Gerinnung, die Fibrinolyse und die Proteine neutrophiler Granulozyten. Sie sind in der Tiermedizin nicht weit verbreitet, der diagnostische Wert dieser APP ist für die Veterinärmedizin unklar und spielt wenn eher im Nutztierbereich eine Rolle [128, 196, 312, 345].

Komplementfaktoren

Das Komplementsystem besteht aus ca. 20 einzelnen Plasmaproteinen. Bei den Komplementfaktoren handelt es sich um eine Gruppe interagierender Serumproteine, die eine Kaskade an Reaktionen auslösen, die in der Opsonierung von Fremdzellen und Partikeln resultieren [227]. Die Komplementproteine sind Zymogene, die nach Aktivierung durch Proteolyse in der Lage sind, andere Mitglieder der Kaskade zu aktivieren. Die Aktivierung des Komplementsystems erfolgt über den

klassischen oder alternativen Signalweg [227]. Die klassische Aktivierung erfolgt nach Bindung von Komplement C1q an initiiierende Faktoren wie Ag-Ak-Komplexe (oder an CRP gebundene Bakterien). Der alternative, phylogenetisch ältere Signalweg benötigt keine Ak für die Aktivierung, sondern kann durch Mediatoren wie Parasiten, Bakterien, Viren, ionisierte Strahlung und Tumorzellen aktiviert werden. Beide Signalwege führen zur Bildung eines *Membrane Attack Complex* aus den Komplementproteinen C5, C6, C7, C8 und C9. Dieser Komplex verursacht die Lyse der Zellmembran. Sie können weiterhin die Chemotaxis von Entzündungszellen, die Freisetzung weiterer Entzündungsmediatoren, Gefäßpermeabilität und –dilatation sowie die Zytotoxizität beeinflussen. Mehr als ein Dutzend Komplementproteine wurden identifiziert, bei C3 handelt es sich um ein *minor* APP [227, 277, 335, 447].

Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)

LBP bindet den Lipid A Teil von bakteriellen Lipopolysacchariden und opsoniert so LPS tragende Partikel und gramnegative Bakterien. LBP kontrolliert unter physiologischen Bedingungen die LPS-abhängige Monozytenreaktion. Der LBP-LPS-Komplex bindet an CD-14 Rezeptoren auf Monozyten und Makrophagen, die TNF freisetzen. TNF mediert dann wie oben beschrieben die endotoxischen Effekte der Bakterien. LBP erkennt also zunächst das LPS und aktiviert dann Wirtsreaktionen, die entweder das Pathogen eliminieren oder im irreversiblen Schock, Multiorganversagen und letztlich im Tod enden [423]. Veränderungen der Serumkonzentrationen des LBP im Rahmen der APR bewirken die Möglichkeit des Wirts auf eine Endotoxinstimulation im Frühstadium zu reagieren und das Tier vor einem septischen Schock zu bewahren [345, 423]. LBP kommt bei den meisten Spezies während physiologischer Zustände in Konzentrationen <0,5 µg/ml vor und steigt im Rahmen der APR innerhalb von 24h auf 50 µg/ml. [197]. Bei LBP handelt es sich um einen guten Parameter, um den Verlauf der APR zu verfolgen und die Möglichkeit des Wirts abzuschätzen, auf LPS zu reagieren [423].

Negative APP

Der Mechanismus für den Konzentrationsabfall der meisten APP ist noch nicht geklärt. Die meisten transportieren Vitamine, Hormone etc. und ihr Abfall bewirkt damit indirekt einen Anstieg biologisch frei verfügbarer Moleküle, die genutzt werden können ohne dass deren Syntheseraten ansteigen [370, 371]. Der Abfall der negativen APP kann je nach Protein schnell mit signifikanten Unterschieden innerhalb von 24h oder graduell über mehrere Tage erfolgen.

Außer Alb werden in der Tiermedizin keine negativen APP genutzt [126].

Albumin

Alb ist mit 30% bis 50% des Totalproteins (TP) das häufigste Plasmaprotein gesunder Hunde. Die Sekretion von Alb wird im Rahmen der APR (unter dem Einfluß von IL-1, IL-6 und TNF) reduziert und erfüllt somit die Definition eines negativen APP. Die Synthese wird im Gegensatz dazu stimuliert,

wenn der onkotische Druck abfällt. Weiterhin kann die Synthese durch Hormone wie Insulin, Thyroxin und Cortisol beeinflusst werden. Eine Zunahme der Albumin-Konzentration durch übermäßige Synthese ist beim Tier nicht bekannt, erhöhte Serumwerte sind idR die Folge einer Dehydratation. Nur 30% bis 40% des Alb kommt im Blut vor, der Rest befindet sich im Interstitium. In der Zirkulation sind 6% bis 10% des Alb Glycoalbumin, welches kovalent an Glucose oder Galaktose gebunden vorliegt. Muskel, Leber und Niere sind mit 40% bis 60% die Hauptbeitragenden zum Albuminkatabolismus. Mit steigendem Alter erhöht sich die totale Plasmaproteinkonzentration, da es zu einem kleinen Abfall von Alb und einem progressiven Anstieg der Konzentrationen der (Immun)Globuline kommt. Plasma Alb hat beim Menschen eine HWZ von 19 Tagen und beim Hund beträgt die HWZ 8,2 Tage [82, 227, 449].

Alb ist verantwortlich für die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks im Plasma, erhält das Blutvolumen und dient der Bereitstellung von AS für den natürlichen Protein-*turnover* in den Geweben. Obwohl Alb nur 50% der zirkulierenden Proteine ausmacht, ist es für 80% des kolloidosmotischen Drucks verantwortlich. Weiterhin ist Alb ein wichtiges Transportprotein (für z.B. Fettsäuren, Cholesterol, Bilirubin, Nitric oxide, Metallionen und Medikamente wie nicht-steroidale Antiphlogistika und Antibiotika). So wird dem Verlust kleiner Moleküle über die Niere vorgebeugt. Alb fungiert durch das Fangen reaktiver Sauerstoffspezies und Peroxynitrit-Radikale ebenfalls als Antioxidans [82, 227]. Durch die reduzierte Albuminsynthese werden große Mengen AS für die Synthese der positiven APP verfügbar [82, 227, 306, 370, 371].

Higgins et al. erforschten die APR von Beageln nach der intravenösen (iv.) Gabe von LPS. Die hepatische Genexpression wurde vier und 24h nach LPS-Administration im Vergleich zu einer Placebogruppe beurteilt. Neben verschiedenen anderen Veränderungen zeigte sich eine verminderte Transkription von Präalbumin nach 24h, was mit einem 15%igen Serumabfall der Albuminkonzentration 24h nach Verabreichung von LPS einherging [188]. Alb ist eines der negativen APP die graduell in ihrer Konzentration abfallen und eine Konzentrationsreduktion macht sich eher bei chronisch entzündlichen Erkrankungen bemerkbar [227].

Transferrin

Transferrin ist ein Glykoprotein bestehend aus einer einzelnen Polypeptidkette von ca. 700 AS, das für den Transport von Fe in der Zirkulation verantwortlich ist. Es bindet Fe in ionisierter Form an zwei Bindungsstellen. Die Fe-Dissoziation erfolgt bei einem $\text{pH} < 5,5$ [82]. Bei Transferrin handelt es sich im Regelfall um ein negatives APP, wobei Geflügel (ovo-Transferrin) einen Anstieg des Transferrins im Rahmen des APR zeigt [167, 262, 319, 345, 509]. Transferrin dient der Versorgung von Geweben mit Fe, indem es Fe aus dem Retikuloendothelialen-System, parenchymalen Geweben und Schleimhautzellen des Darmes aufnimmt und in das Knochenmark und andere eisenabhängige

Gewebe transportiert. Humanes eisenfreies Transferrin kann Endotoxine binden, wobei die Toxizität des Endotoxins verstärkt wird. Die Rolle von Transferrin im Rahmen der APR ist unklar, aber es wird eine Sequestrierung von Eisenionen vermutet. Dies soll eine Nutzung des Fe als Nährstoffe für Pathogene und Parasiten begrenzen. Bei der Anämie chronischer Erkrankungen, die im Rahmen der APR auftreten kann, finden sich erniedrigte Transferrin- und erhöhte Ferritinkonzentrationen [42, 82, 167, 345].

Sonstige

In Tabelle 3 findet sich eine Übersicht über weitere in der Human- und Veterinärmedizin vorkommende APP.

Tabelle 3: Zusammenstellung weiterer APP unter Berücksichtigung ihrer Funktion, modifiziert nach [73, 122, 227, 234, 277, 345, 353, 370, 382, 426, 436, 443, 466].

APP	Funktion
Bestandteile der Blutgerinnung	
Faktor VII und VIII	Gerinnungsfaktor
Von-Willebrand-Faktor	Gerinnungsfaktor
Prothrombin	Bildung des Fibringerinnsels
Fibronektin	Bildung des Fibringerinnsels
Plasminogen	Fibrinolyse
Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1	Proteinase-Inhibitor
Alpha-2-Antiplasmin	Regulierung der Gerinnungskaskade
Antithrombin 3	Regulierung der Gerinnungskaskade
Transportproteine	
Hämopexin	Hämbindung/Hämtransport
Transthyretin (= Präalbumin)	Negatives APP bei Mensch und Ratte, vorsicht bei Interpretation da Ernährungseinfluss
Retinol-bindende Proteine	Negatives APP bei Mensch und Ratte, vorsicht bei Interpretation da Ernährungseinfluss
<i>Cortisol-binding-protein</i>	Negative APP bei Ratten, vorsicht bei Interpretation da Ernährungseinfluss
Sonstige	
Heparin-Kofaktor 2	Proteinase-Inhibitor
Kallikreine	Erhöhung der Gefäßpermeabilität
Hämoxygenase	Hämobau
Mangan-Superoxid-Dismutase	Kupfer- und Zinkbindung, Bildung von freien Sauerstoffradikalen
Serum Amyloid P	Bildung von IgG Immunkomplexen
<i>Pig Major APP</i>	Unklar
Ferritin	Intrazelluläres Eisenspeichermolekül
Procalcitonin	Vorstufe von Calcitonin, Sepsismarker
Adiponectin	Experimentell beim Hund negatives APP
Mannose-bindendes Protein	Minor APP Huhn, Opsonin, Aktivierung des alternativen Signalwegs des Komplementsystems
Insulin-like Growth Faktor	Experimentell beim Hund negatives APP
Hepcidin	Eisenregulation während Entzündungen
Apolipoprotein A-1	negatives APP, Inhibitor der Koagulation und Plättchenaggregation, mit HDL assoziiert
Annexin	phospholipidbindendes Protein, Suppression als Antwort auf Endotoxin

2.3 Einsatz von Akute-Phase-Proteinen beim Hund

Zunehmend hält die Bestimmung der Konzentrationen und des Konzentrationsverlaufs von APP Einzug in die Veterinärmedizin. Sie werden zur Detektion und dem Abschätzen des Ausmaßes einer Inflamationsreaktion, zur Beurteilung des Ansprechens auf eine Therapie, Prognoseabschätzung oder dem Vorhersagen eines Rückfalls verwendet. Weiterhin kann bei großen Tiergruppen der Krankheitsstatus der Gruppe bestimmt werden oder beim Einzeltier ein Gesundheitsscreening („molekulares Thermometer“) durchgeführt werden [44, 123, 124, 126].

Der Anstieg der APP Konzentration erfolgt je nach Protein innerhalb weniger Stunden. Aufgrund dessen handelt es sich um einen sehr **sensitiven Indikator für eine akute Entzündung**. APP können vor Ausbildung klinischer Symptome ansteigen und zeigen im Vergleich mit anderen traditionellen Entzündungsparametern (Leukozytose, Neutrophilie) eine bessere Sensitivität [305, 308, 348, 439]. Wegen der kurzen HWZ und der hohen Sensitivität stellt die Bestimmung der APP Konzentrationen eine gute Methode zur Messung einer **systemischen Reaktion auf einen Stimulus zum Zeitpunkt der Blutentnahme** dar [383]. APP reagieren zwar sehr sensitiv und präzise auf infektiöse oder entzündliche Veränderungen, aber auch unspezifisch [126]. Konzentrationen steigen unabhängig von der Art des auslösenden Agens an. Die erwähnten proinflammatorischen Zytokine werden durch jegliche entzündliche Stimuli und sogar durch nicht entzündliche Faktoren wie Tumoren (einige Tumoren können die Produktion ähnlicher Cytokinmuster hervorrufen wie bei Entzündungen und somit auch in Abwesenheit exogener Entzündungsstimuli eine APR hervorrufen), Stress und Trächtigkeit aktiviert. Die höchsten APP Konzentrationen sind bei infektiösen Prozessen (insbesondere bei systemischen bakteriellen Erkrankungen) und immunmedierten Erkrankungen zu erwarten. Zu bedenken ist allerdings auch, dass Tiere mit primär nicht entzündlichen Erkrankungen (Nierenerkrankung, hepatische Malfunktion, Diabetes mellitus, Neoplasien) durch sekundär entzündliche Läsionen erhöhte CRP Werte aufweisen können [83, 124, 348]. Bei zahlreichen gastrointestinalen Erkrankungen wird eine APR in Gang gesetzt, jedoch bei beispielsweise exokriner Pankreasinsuffizienz oder aerobem *bacterial overgrowth* findet kein Anstieg der APP Konzentrationen statt [79, 82]. Dieses Fehlen der Spezifität stellt eine Einschränkung des Nutzens als diagnostisches Instrument dar. Durch die unspezifische Natur einer erfolgenden Konzentrationsveränderung des CRPs ist es nicht möglich oder auch ratsam, dieses ohne vollständige klinische Untersuchung und Anamnese oder Resultaten der weiterführenden Untersuchungen zu interpretieren [76, 371, 382]. Eine erhöhte Konzentration der APP zeigt lediglich an, dass eine Entzündungsreaktion abläuft, jedoch nicht welcher Art. Sie muss den Kliniker dazu veranlassen nach Ort, Typ und Schweregrad der Entzündung zu suchen sowie das auslösende Pathogen zu

identifizieren. Die Messung der positiven APP hat somit entgegengesetzte Bedeutung zu Serologie, Bakteriologie etc., da mittels dieser Methoden spezifische Pathogene nachgewiesen werden sollen [370, 371]. Es ist prinzipiell möglich, dass zwei verschiedene Krankheitsprozesse parallel vorkommen. So kann es zu „falsch positiven“ Resultaten durch Impfung, Steroidgabe, Barbituratgabe und Trächtigkeit kommen. „Falsch niedrige“ Werte können bei Lebererkrankungen wie Leberzirrhose aufgrund fehlender Proteinbiosyntheseleistung auftreten [82, 370, 404, 430].

In der humanmedizinischen Literatur finden sich Hinweise darauf, dass mithilfe der Bestimmung der CRP Konzentrationen zwischen viralen und bakteriellen Infektionen unterschieden werden kann. Dies ist der Fall da TNF- α und IL-1 β durch Endotoxine stärker als durch virale Infektionen aktiviert werden. Beispielsweise kommt es bei bakteriellen Meningitiden zu einem deutlichen Anstieg der CRP Konzentrationen, während diese bei viralen Formen ausbleiben. Die Unterscheidung zwischen bakteriellen und viralen Infektionen anhand der Konzentrationen des CRPs kann allerdings aufgrund der hohen individuellen Variation der CRP Synthese nicht zuverlässig gelingen [383]. **Eine Unterscheidung zwischen einzelnen Krankheitsbildern ist in der Veterinärmedizin nur schwer möglich** [82]. Laut Mukorera et al. ist CRP nicht geeignet, um zwischen benigner und maligner kaniner Spirocercose zu unterscheiden (wohl aber um mittels serieller Messungen das Ansprechen auf die Therapie zu beurteilen) [343]. Im Gegensatz dazu fanden Nivy et al. heraus, dass keines der untersuchten APP (CRP, Hp, SAA und Alb) zum Therapiemonitoring der Spirocercose geeignet war, aber eine moderate Möglichkeit zur Unterscheidung zwischen benigner und maligner Form. Wenn alle vier APPs im Referenzbereich liegen, ist eine maligne Neoplasie des Ösophagus unwahrscheinlich [358]. Obwohl es signifikante Unterschiede beim Hp zwischen Hunden mit Aspergillose und chronischer Rhinitis gab, gelang es Sheahan et al. nicht, mit Hilfe der APP eine Unterscheidung verschiedener Krankheitsbilder (Idiopathische Rhinitis, Neoplasie, Aspergillose) bei Hunden mit chronischen nasalen Erkrankungen zu treffen [431]. Mischke et al. konnten mittels der Konzentrationsbestimmung von CRP und Hp nicht zwischen Hunden mit verschiedenen lymphoiden Neoplasien (multizentrisches Lymphom, akute lymphatische Leukämie, chronisch lymphatische Leukämie, Multiples Myelom) differenzieren [328]. Im Gegensatz dazu konnte gezeigt werden, dass die Konzentrationsbestimmung von APP hilfreich sein kann, um zwischen verschiedenen Typen von Ergüssen (Transsudate versus modifizierte Transsudate versus Exsudate) zu unterscheiden [66, 374]. Es konnte dazu eingesetzt werden zwischen endometrialen Hyperplasien und Pyometritiden sowie offener und geschlossener Pyometra zu differenzieren und bei Steroid-responsiver Meningitis-Arteriitis (SRMA) ergaben sich bei Hunden signifikant höhere CRP Konzentrationen in Serum und Liquor als bei anderen neurologischen Erkrankungen [30, 103, 136, 145]. Bei Tieren mit klinischen Symptomen, die sowohl durch entzündliche als auch durch nicht entzündliche Erkrankungen

ausgelöst werden können, kann eine erhöhte APP Konzentration ebenfalls auf eine Entzündungsreaktion hinweisen (z.B. Lahmheit ausgelöst durch immunmedierte Polyarthrititis versus degenerative Gelenkerkrankung) [83, 362]. Hunde mit bakterieller Penumonie wiesen signifikant höhere CRP Konzentrationen auf als Tiere mit bakterieller Tracheobronchitis, eosinophiler Bronchopneumopathie, kardiogenem Lungenödem und Lungenfibrose [485]. Die Bestimmung der AGP Konzentration konnte beim Hund helfen, zwischen chronischen und akuten Krankheitsstadien bei Filariose und Hepatopathie zu unterscheiden [521].

Die Bestimmung der APP Konzentrationen kann zwar nicht zur spezifischen Diagnose herangezogen werden. Dennoch können diese aber das Ausmaß der Läsion anzeigen [383]. Häufig korreliert das Ausmaß des Anstiegs der APP Konzentrationen mit der **Schwere der Erkrankung und dem Schweregrad einer Entzündung** und subklinische Tiere zeigen niedrigere APP Konzentrationen als klinische Patienten [11, 74, 82, 306, 352, 399, 471, 516, 524]. Meist zeigt sich kein Zusammenhang zwischen der Höhe des Ak Titers (spätes erworbenes Immunsystem) und der APP (frühes angeborenes Immunsystem) [82, 306, 399]. Demzufolge bietet sich an, die APP Konzentrationsbestimmung zum **Therapiemonitoring und zur Überwachung des postoperativen Heilungsverlaufs** zu nutzen. Damit kann das Ansprechen auf eine Therapie beurteilt werden und über den Zeitpunkt des Absetzens der Medikamente entschieden werden. Beim Hund wurde dies erfolgreich für zahlreiche infektiöse (z.B. Babesiose, Leishmaniose, Parvovirose, Dirofilariose, Trypanosomiasis) und andere entzündliche Erkrankungen (z.B. Immunmedierte Polyarthrititis, Immunhämolytische Anämie, *Inflammatory bowel disease*, akute Pankreatitis) genutzt [195, 219, 245, 298, 300, 304, 308, 314, 323, 331, 352, 362, 412, 445]. So wurde beispielsweise bei der Leishmaniose der Konzentrationsverlauf verschiedener Kombinationen der APP zur Beurteilung des Therapieerfolgs herangezogen und ein bestimmter Index als optimal für das Therapiemonitoring ausgewählt [300]. Gerade bei der Steroid-responsiven Meningitis-Arteriitis ist ein Therapiemonitoring mit dem APP CRP sinnvoll. So stellt die Konzentration von CRP einen sensitiven Marker der Remission (Abfall im Serum parallel zum Absinken der Zellzahl im Liquor schreiben) dar und kann einen Rückfall (erhöhte Konzentrationen von CRP in Liquor und Serum) anzeigen. Zudem ist die CRP Konzentrationsbestimmung wesentlich günstiger und weniger invasiv als das konventionelle *Monitoring* mittels Liquoruntersuchung [30, 126, 288, 289]. Ähnliches gilt für die Therapieüberwachung der immunmedierten Polyarthropathie. CRP Konzentrationen sind bei betroffenen Hunden höher als in der Kontrollgruppe und sinken im Verlauf der Therapie mit Prednisolon. CRP Konzentrationen korrelieren mit Schmerz und Mobilität des Tieres sowie der Zellzahl der Synovia [141]. Insgesamt ist bei der Interpretation der APP Konzentrationswerte zu bedenken, dass es große Inter-individuelle Unterschiede gibt und es sinnvoller ist, den Verlauf der

APP über einen gewissen Zeitraum zu beurteilen als die absoluten Konzentrationen zu einem bestimmten Zeitpunkt als Diagnoseinstrument zu nutzen [383, 404].

Auch als **prognostische Parameter** sind die Konzentrationsbestimmungen der APP einzusetzen. Für Patienten mit Parvovirose, akutem Abdomen, *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS), akuter Pankreatitis und postoperativen Zuständen nach Pyometra konnte nachgewiesen werden, dass ein langsamer oder ausbleibender CRP Konzentrationsabfall oder erneuter Konzentrationsanstieg mit einem schlechteren *outcome* bzw. Komplikationen und einer höheren Morbidität und Mortalität bzw. einer längeren Hospitalisation einherging [126, 146, 152, 255, 296, 314, 464]. Karlsson et al. zeigten, dass CRP ein guter Sepsismarker bei Hunden mit Pyometra ist [230]. Für kritisch kranke Hunde mit SIRS bzw. Sepsis konnte zwar eine Assoziation zwischen dem *outcome* und dem Abfall der CRP Konzentrationen über die Zeit hergestellt werden, es ergab sich aber kein Zusammenhang zwischen initialer CRP Konzentration und Überleben bzw. Sterben [157, 464]. In der Humanmedizin wird häufig auch die initiale Höhe der CRP Konzentration als prognostischer Marker verwendet, dies konnte in der Tiermedizin für die Parvovirose und CRP nachvollzogen werden. CRP Konzentrationen, die höher als 92,4 mg/l liegen, sind bei Hunden mit Parvovirose mit einer 91%igen Sensitivität geeignet, die Mortalität vorauszusagen [255]. Hunde mit idiopathischer Polyarthrititis zeigen nicht nur zum ZP der Diagnose deutlich erhöhte CRP Konzentrationen, die nach Ansprechen auf Steroidtherapie absinken, sondern das initiale Absinken der CRP Konzentration nach der Therapie kann hier als prognostischer Faktor gewertet werden [362]. Der initiale CRP Konzentrationswert ist bei Hunden mit akuter Pankreatitis nicht mit dem *outcome* korreliert, aber CRP Werte zwei Tage nach Beginn der klinischen Symptome unterschieden sich bei überlebenden und sterbenden Hunden signifikant [296].

APP Konzentrationen können vor der Ausbildung klinischer Symptome ansteigen und eignen sich aufgrund dessen zur **Detektion und dem screening auf subklinische Erkrankungen**. So zeigte die AGP Konzentrationsmessung während *Screening*untersuchungen eine Parvovirose vor klinischen Symptomen an [82, 363]. CRP und AGP Konzentrationen steigen während der präsymptomatischen Phase der Ehrlichiose und Leishmaniose an und nach Unterbrechen einer Leishmaniosetherapie kann anhand der Konzentrationsmessung des CRPs ggf. ein Rückfall vorausgesagt werden [306, 344, 370, 399, 412]. Eine Routinelaboruntersuchung ohne Evaluation der APP Konzentrationen ist als suboptimal zu werten [83, 125].

In experimentellen Studien **zur Einschätzung von neuen Medikamenten oder Therapieformen** finden APP ebenfalls Anwendung. So wurde unter anderem der Effekt von Statin auf Vorhofflimmern in einem kaninen sterilen Perikarditismodel sowie der Effekt einer Diät mit mehrfach ungesättigten Omega-3-Fettsäuren bei Patienten mit Lymphom untersucht [82, 266, 360]. SAA und AGP wurden zur

Überprüfung der Effizienz einer Impfung gegen Parvovirose bestimmt [[524]. In einer Studie aus 2015 wurden CRP, SAA, Hp und Alb Konzentrationen eingesetzt um die Effektivität einer Ehrlichioseimpfung zu überprüfen. Es zeigte sich bei geimpften Tieren, die im Anschluss mit einem Feldstamm infiziert wurden im Vergleich zu ungeimpften Tieren eine reduzierte APR verglichen mit ungeimpften Tieren. Die positiven APP Konzentrationen korrelierten mit der Stärke des Rickettsienbefalls, der Körpertemperatur und negativ mit den Thrombozytenzahlen [408]. In der Humanmedizin soll zukünftig die Analyse des Glykolisierungsmusters verschiedener APP wie Haptoglobin dabei helfen, neue **Tumormarker** zu entwickeln [112]. Dies ist in der Zukunft auch in der Tiermedizin denkbar.

Die meisten experimentell induzierten oder natürlich vorkommenden, akut oder chronisch infektiösen Erkrankungen gehen mit einer Erhöhung der APP Konzentrationen einher, je nach Erkrankung spielen unterschiedliche APP dabei eine Rolle (siehe Tab. 4) [82]. Obwohl SAA bei einigen Erkrankungen (Parvovirose, Leishmaniose) einen Konzentrationsanstieg zeigt, **bleibt CRP das primäre kanine APP** [227].

In Tab. 4 findet sich eine Zusammenfassung von APP, die bei verschiedenen kaninen Krankheitszuständen eine Rolle spielen.

Tabelle 4: APP bei verschiedenen Erkrankungen, modifiziert nach [82]

	Erkrankung	APP	Referenz	Besonderheit
Infektiöse Erkrankungen	Babesiose	CRP, Hp, SAA, AGP, Cp	[28, 56, 126, 259, 285, 308, 416, 445, 471]	Die CRP Konzentration zeigt keine Assoziation mit <i>outcome</i> oder Hospitalisationsdauer. Die diagnostische Sensitivität von CRP bzw. SAA Konzentration ist größer als von BSG, Hämatokrit (Hkt) bzw. Wbc. CRP bzw. SAA Konzentration kann zum Therapiemonitoring eingesetzt werden. Kein überlebendes Tier hatte zum ZP der Vorstellung eine CRP Konzentration < 63,2 mg/l. Die CRP Konzentration sinkt invers mit dem Anstieg des <i>packed cell volume</i> . Das Ansprechen auf Therapie kann beurteilt werden. Hp Konzentration zeigt signifikanten Abfall. Nach experimenteller Infektion steigt die CRP Konzentration vor Detektion der Parasiten im Blut. ZP aber nicht Ausmaß der CRP Konzentration ist von der infektiösen Dosis abhängig. Die Konzentration von CRP bzw. Cp ist signifikant höher bei komplizierten Fällen als bei unkomplizierten, die Konzentration von Hp signifikant niedriger.
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	CRP, SAA	[514]	

	Anaplasmose	CRP	[372]	
	<i>Ehrlichia canis</i>	CRP, AGP, SAA, Hp, Cp	[126, 344, 346, 399, 433, 498]	Abfall der CRP Konzentration sobald klinische Besserung obwohl Parasit persistiert. Dies impliziert Heilung des Gewebeschadens. Die Konzentration von CRP, SAA bzw. Hp ist Indikator der klinischen Phase der Ehrlichiose (höher bei myelosupprimierten Hunden) aber kein Indikator für das <i>outcome</i> . AGP bzw. Cp Konzentration steigt an bevor klinische oder andere labordiagnostische Veränderungen auftreten.
	<i>Escherichia coli</i> Sepsis	CRP	[126, 201]	Abfall der Konzentration von CRP bzw. Cp zu Beginn und Abfall der SAA Konzentration am Ende einer erfolgreichen Therapie.
	Leishmaniose	CRP, Hp, Cp, SAA	[82, 126, 298, 300, 302, 304, 306, 412]	Die Konzentration des CRPs ist bei symptomatischen Hunden signifikant höher als bei asymptomatischen. Keine Korrelation der APP Konzentration zu Albumin/Globulin-Quotient und Ak-Titer. Signifikanter CRP Konzentrationsabfall während Behandlung. CRP Konzentration im Urin kann genutzt werden um Nierenschaden bei Leishmaniose zu detektieren. Hp Konzentration sinkt während Therapie nicht signifikant. Therapiemonitoring am besten mittels CRP*Cp/Alb Index möglich, die Konzentration von CRP bzw. Cp kann auch einzeln zum Therapiemonitoring genutzt werden. Abfall der SAA Konzentration unter Therapie.
	Leptospirose	CRP, Hp	[79, 126, 307, 365, 515]	CRP/Hp-Quotient hat prognostische Aussagekraft. CRP Konzentration nicht nützlich um Leptospirämie und Leptospirurie vorrauszusagen. Hp bzw. CRP Konzentration ist verändert, aber zeigt keinen Unterschied zwischen überlebenden und verstorbenen Hunden.
	Parvovirose	CRP, Hp, Cp, SAA, AGP	[82, 126, 255, 256, 314, 515, 521, 524]	Höhe des Konzentrationsanstiegs ist von prognostischer Relevanz. Die Sensitivität und Spezifität von CRP Konzentration 48h nach Vorstellung um zwischen überlebenden und sterbenden Tiere zu unterscheiden, beträgt 86,7% bzw. 78,7%.
	Trypanosomiasis	CRP, Hp	[82, 352]	
	Aspergillose	CRP, Hp, AGP, SAA	[431]	
	Staupe	AGP	[521]	
	Spirocercose	CRP, SAA, Hp	[343, 347, 358]	Unterschiedliche Aussage über Möglichkeit des Therapiemonitorings mittels Bestimmung der APP Konzentration. Keine Assoziation zwischen APP Konzentration und Anzahl der ösophagealen Knoten.

	Dirofilariose	AGP, CRP, Hp, Alb	[74, 322, 323, 481, 521]	Akut>chronisch CRP Konzentration korreliert mit dem Schweregrad der Erkrankung. Verlauf der CRP Konzentration: Abfall nach Therapie mit Doxycylin und Ivermectin, Anstieg kurz nach und Abfall nach erfolgreicher Therapie mit Melarsomin, CRP bzw. Hp Konzentration ist zur Überwachung bezüglich Komplikationen und Erfolg nach adulticider Therapie nützlich.
Gastrointestinale Erkrankungen	Experimentelle Verletzung der gastralen Mukosa	CRP, Hp, SAA, Fb	[37, 366]	An Tag 7 war die Konzentration aller APP außer Hp wieder im Referenzbereich.
	<i>Inflammatory bowel disease</i>	CRP, Hp	[126, 219]	CRP Konzentration korreliert mit Erkrankungsaktivität. Zusätzliches Kriterium im <i>scoring</i> Index und nützlich beim Therapiemonitoring. Kein Anstieg von Hp Konzentration.
	Akute Pankreatitis	CRP, AGP	[82, 195, 296, 521]	Höhere Werte bei schweren Formen (nekrotisierende Pankreatitis>interstitielle Pankreatitis). Die Konzentration des CRP ist geeignet zum Therapiemonitoring.
Immunmedierte Erkrankungen	Rheumatoide Arthritis	CRP	[79]	Keine Konzentrationserhöhung bei inaktiver Erkrankung.
	SRMA	CRP, SAA, Hp, AGP	[30, 288, 289]	Konzentration des CRP zeigt Rückfall an und kann für das Therapiemonitoring genutzt werden.
	immunmedierte Polyarthrit	CRP	[141, 245, 362]	CRP Konzentration kann zum Therapiemonitoring und initiales Ansprechen des CRP nach Kortikosteroidtherapie als prognostischer Faktor genutzt werden. Korrelation der CRP Konzentration mit Schmerz und Mobilität des Tieres sowie Zellzahl der Synovia.
	Nicht-erosive Arthritis	CRP	[79, 82]	Keine Erhöhung bei inaktiver Erkrankung.
	Immunhämolytische Anämie	CRP, AGP, Cp	[82, 172, 331, 457, 521]	Abfall von Hp Konzentration, CRP Konzentration dient nicht als prognostisches Kriterium. APP Konzentration ist nicht prädiktiv für das Überleben. Aussage über Korrelation mit Therapieansprechen unterschiedlich je nach Quelle.
Endokrinopathien	Hyperadrenokortizismus	Hp, Fb, SAA, CRP, AGP	[24, 65, 316, 317, 521]	Endogene Glukokortikoidproduktion stimuliert Hp Synthese. Erhöhte Hp Konzentration bei normalen CRP Werten können hinweisend auf einen HAC sein. Erhöhte CRP bzw. Hp Werte bei einem diagnostizierten HAC-Patienten können auf eine weitere, ggf. subklinische inflammatorisch oder infektiöse Erkrankung hindeuten. Hp Konzentration nicht geeignet zur Therapiekontrolle. Da CRP Konzentration bei Hunden mit HAC und Inflammation<Inflammation ohne HAC sind, kann das auf einen inhibitorischen Effekt der Kortikosteroide auf CRP Synthese hindeuten.
	Diabetes mellitus	Hp	[82, 126, 317]	Theorie: chronische Entzündung spielt bei dieser Erkrankung eine Rolle.

Neoplasien	Mammatumor	CRP, Hp, SAA	[82], [79, 100, 386, 456]	Keine AGP Konzentrationserhöhung (trotz der Postulation AGP habe höhere Sialinsäurekonzentrationen in Neoplasien). CRP Konzentration signifikant höher als in Kontrollgruppe (nur bei Karzinomen, nicht generell bei malignen Tumoren). Keine Vorhersage der Malignität möglich. Signifikanter Anstieg der Konzentration der positiven APP nur wenn Metastasen, Neoplasie > 5 cm oder Ulzerationen. Maligne Neoplasien haben trotz Überlappungen signifikant höhere CRP Konzentration.
	Mastzelltumor	CRP, AGP, SAA	[85]	Abfall SAA Konzentration.
	Sarkom	CRP, AGP, Hp	[85]	
	Lymphom	CRP, Hp, AGP, SAA	[8, 82, 126, 178, 324, 325, 328, 357, 361, 457]	AGP, CRP, SAA bzw. Hp Konzentration bei betroffenen Tieren erhöht. Keine Vorhersage über Rezidiv möglich. Keine Beeinflussung der Konzentration des CRPs durch Chemotherapie an sich. Signifikant unterschiedliche Konzentration vor und nach Therapie, bei kompletter und partieller Remission sowie stabiler oder progressiver Erkrankung, aber mittels CRP keine sichere Unterscheidung möglich. Kein Unterschied der CRP Konzentration bei <i>substage</i> a oder b. Signifikanter AGP Konzentrationsabfall, wenn die Tiere sich in kompletter Remission befinden. Vorhersage von Rezidiv drei Wochen vor Klinik möglich. Kombination CRP bzw. Hp Konzentration hat prognostische Aussagekraft. SAA Konzentration signifikant höher bei Hunden mit multizentrischem Lymphom verglichen mit Kontrollgruppe, Chemotherapie an sich hat keinen Einfluss auf SAA Konzentration. Keine Vorhersage eines Rezidivs mit Hilfe SAA Werten möglich. Welche Tiere Remission zeigen, ist anhand der initialen Werte nicht vorauszusagen.
	Multiples Myelom	CRP, Hp	[328]	
	Akute lymphatische Leukämie, Chronisch lymphatische Leukämie	CRP, Hp	[328, 457]	Besonders schwere und akute lymphatische Neoplasien gehen mit signifikanter APR einher.
	Nasale Neoplasien	CRP, Hp, AGP, SAA	[431]	
	Diverse Neoplasien (Karzinome, Sarkome, Rundzelltumoren)	AGP, Hp	[206, 317, 361, 523]	Z.T. Lokalisation von AGP im Tumorgewebe. Klinisch schwer erkrankte Tiere haben höhere AGP Konzentration als subklinische Tumorpasienten.

Sonstiges	Pyometra	CRP, SAA, Hp, AGP	[102, 103, 103–105, 136, 145, 146, 152, 177, 222, 515, 521]	Prognostische Relevanz. Monitoring des Therapieerfolgs und der postoperativen Komplikationen mittels CRP bzw. SAA Konzentration möglich. SAA Konzentration ist signifikant unterschiedlich bei septischen und nicht septischen Patienten. Aussage über Hospitalisationsdauer je nach Studie unterschiedlich.
	Trächtigkeitsdiagnostik	CRP, Cp, Fb, Hp, AGP	[93, 126, 132, 270, 271, 473, 479]	Keine Unterscheidung zwischen verschiedenen Stadien des Östrus möglich. Hp Konzentration zeigt gute Ergebnisse ab der dritten Trächtigkeitswoche, allerdings sind falsch positive Ergebnisse möglich. CRP <i>peak</i> -Konzentration bei trächtigen Hunden 30 bis 45 Tage nach Ovulation, AGP <i>peak</i> -Level 45 Tage nach Ovulation.
	Chirurgie	CRP, Hp, Cp	[79, 95, 251, 354, 429, 435, 515]	CRP <i>peak</i> -Werte nach 24h. Hp <i>peak</i> -Werte nach 3-5 Tagen. Cp <i>peak</i> -Werte nach 4-6 Tagen. AGP <i>peak</i> -Werte nach 3-5 Tagen. 12h nach Weichteilchirurgie (Vasektomie, Ovariohysterektomie endoskopisch und laparoskopisch) signifikant höhere CRP Konzentration als vor Operation
	Nierenerkrankung	CRP, AGP	[392, 521]	Signifikante Korrelation zwischen CRP Konzentration und biochemischen Parametern der Nierenfunktion
	Experimentell induzierte Zystitis	CRP	[428]	Für Therapiemonitoring geeignet.
	Hepatopathie	AGP, Hp, α -1-Antitrypsin	[97, 430, 521]	APP Konzentration bei terminaler Leberzirrhose erniedrigt, sozusagen Leberfunktionsparameter. Wenn APP Konzentration bei Hepatitis erhöht ist, geht dies mit besserer Prognose einher. Akut>chronisch Hp Wert zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen gesunden Hunden und solchen mit PSS und primärer Hepatopathie.
	Urolithiasis	AGP	[521]	
	Akutes Abdomen	CRP	[152]	Schlechte Prognose wenn CRP Konzentration zum initialen ZP und nach 48h erhöht ist.
	Generalisierte Demodikose	CRP	[472]	
	Rhinitis	CRP, Hp, SAA	[431]	
	Trauma	AGP	[521]	Akut>chronisch
	Bandscheibenvorfall	CRP, Hp, AGP, SAA	[11]	Bei Bestimmung der Hp Konzentration aus Liquor 4h nach dem Vorfall ist diese signifikant höher als bei gesunder Kontrollgruppe. Hp bzw. CRP Konzentration signifikant und positiv korreliert mit TP Konzentration im Liquor. CRP bzw. Hp Konzentration signifikant höher bei hochgradigen (hgr.) Befunden, aber keine Assoziation mit outcome.
	Portosystemischer Shunt (PSS)/Hepatoenzephalisches Syndrom(HS)	CRP, Hp	[97, 171]	Hunde mit PSS aber ohne HS haben signifikant niedrigere CRP Konzentration als Hunde mit PSS mit HS.

	Aggression	CRP	[393]	Aggressive Hunde haben signifikant höhere CRP Konzentration als Kontrollgruppe. Aktivierung der systemischen Entzündung kann zur Pathophysiologie der Aggression beim domestizierten Hund beitragen.
	Transportstress	CRP, Hp, SAA	[138]	Signifikanter Anstieg.

2.4 Einsatz von Akute-Phase-Proteinen in der Humanmedizin

In der Humanmedizin sind APP im Allgemeinen und das *major* APP CRP im Speziellen extrem sensitive Marker für Entzündungen und Gewebeschäden. Die quantitative Messung der CRP Konzentration ist ein nützlicher Marker in der Diagnose, der Kontrolle des Behandlungserfolgs und der Prognose für Patienten mit einer Vielzahl an Erkrankungen. CRP ist in der Humanmedizin einer der frequentiertesten Labortests. APP werden bei infektiösen, ischämischen, neoplastischen, chirurgischen, immunologischen und diversen anderen Erkrankungen genutzt. Im Folgenden wird nur auf den Einsatz im Zusammenhang mit Herz-/Gefäßerkrankungen in der Humanmedizin eingegangen. In der Humanmedizin existieren diverse Studien, die sich mit der Korrelation von APP und kardiovaskulärer Erkrankungen beschäftigen. APP können kardiovaskuläre Erkrankungen vorhersagen und reflektieren deren Intensität [6].

Beispielsweise scheint eine systemische Inflammation in die Pathogenese der chronisch rheumatischen Klappenerkrankung involviert zu sein. Die CRP Konzentration ist bei Patienten mit akuter rheumatischer Karditis und mit chronischer rheumatischer Klappenerkrankung im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe signifikant höher. Die Konzentration korreliert weiterhin mit dem Grad der Mitralklappenregurgitation [89, 165]. Serummarker einer Entzündung (z.B. hochsensitiver CRP *assay* (hs-CRP), Fb, IL-6, TNF- α) korrelieren in der chronischen Phase der Erkrankung mit dem Schweregrad der Klappeninvolvierung, der Klappenvernarbung, der Klappenkalzifizierung und dem verminderten Funktionsstatus. Die CRP Level waren unter anderem positiv korreliert mit dem Auftreten von Vorhofflimmern sowie der Größe des linken Atriums [10, 107, 274].

Wie erwähnt ist eine entzündliche Reaktion bei den verschiedenen Stadien der Pathogenese der Koronarherzerkrankung (Atherogenese, akutes thromboembolisches Event mit folgender ischämischer Nekrose bei akutem MI, myokardialer Schaden nach Ischämie) beteiligt [76]. Plasmalevel verschiedener Entzündungsmarker wurden mit dem Risiko zukünftiger kardiovaskulärer Probleme in Beziehung gebracht. Mittlerweile weiß man, dass CRP der stärkste univariate Marker für das Risiko zukünftiger kardiovaskulärer *events* bei scheinbar gesunden adulten Menschen ist. Bereits geringfügige Erhöhungen der Basalkonzentrationen von CRP erhöhen das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen signifikant. Diese subtilen Erhöhungen können subklinische vaskuläre Entzündungen

reflektieren oder aufgrund einer genetischen Variante (genetischer Polymorphismus) entstehen [106, 120, 448]. Verschiedene prospektive epidemiologische Studien haben gezeigt, dass bereits geringfügige aber dauerhafte Erhöhungen der Basalkonzentrationen von CRP mit dem Langzeitrisiko für **Myokardinfarkt, Koronarherzerkrankung, Schlaganfall, Progression peripherer Gefäßerkrankung und kardiovaskulärem Tod** korrelieren [6, 47, 57, 76, 176, 261, 280, 321, 382, 383, 396, 397, 409, 427, 520]. CRP detektiert eher das Vorhandensein vulnerabler Plaques und der damit verbundenen Risiken zukünftiger kardiovaskulärer *events* als das Ausmaß der Atherosklerose. CRP soll in Zukunft stattfindende kardiovaskuläre *events* vorhersagen und nicht wie z.B. Ischämie marker erst nach Plaqueabriss ausschlagen [47]. Als Entzündungsreaktionen als einer der Hauptfaktoren in der Pathogenese der Arteriosklerose und des Myokardinfarkts identifiziert wurde, wurde nach Entzündungsmarkern gesucht, die das **klinische outcome der kardialen Patienten** voraussagen können. Es ist mittlerweile bekannt, dass erhöhte hs-CRP Konzentrationen mit einer schlechten kardiovaskulären Prognose einhergehen. Der Verlauf des hs-CRP nach Myokardinfarkt kann Mortalität und Morbidität unabhängig von der Infarktgröße vorhersagen. Nach einem akuten Myokardinfarkt folgt immer eine erhebliche APR, ausgelöst durch die akute Entzündung um die Läsion. Ein direkter Zusammenhang zwischen sehr hohen CRP Werten nach **akutem Myokardinfarkt** und ungünstigem *outcome* wurde erstmals 1982 berichtet. Viele nachfolgende, auch populationsbasierte prospektive Studien zeigten, dass erhöhte *peak*-Konzentrationen und postinfarkt CRP Level signifikant und unabhängig von den Konzentrationen anderer Markerproteine mit erhöhter Inzidenz von kardialen Komplikationen inkl. Herzversagen und kardialen Tod waren. Diverse Studien haben CRP als einen guten Kurz- und Langzeitprognosemarker für Patienten mit akutem Koronarsyndrom identifiziert [6, 45, 47, 76, 265, 382, 398]. Andreassen et al. konnten eine quantitative Beziehung zwischen MI-Größe und Veränderungen der Plasmaspiegel hinsichtlich der APP Konzentrationen (CRP, Hp, AGP und α -1-Antitrypsin) zeigen [16]. CRP reflektiert nicht nur das Ausmaß des myokardialen Gewbeschadens, sondern trägt durch seine Ablagerung im Infarkt und folgende Komplementaktivierung auch aktiv zum ischämischen Myokardschaden bei. [76, 106, 135, 280, 382].

CRP wird als Risikofaktor für die Entstehung eines Thrombus im linken Ventrikel bei Patienten mit akutem MI angesehen [81]. Es konnte gezeigt werden, dass Patienten, bei denen eine Stentimplantation durchgeführt werden sollte und die erhöhte prä- oder intraoperative CRP Werte aufwiesen, trotz adäquater antithrombotischer Therapie, ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre *events*, Stentrestenosen und Stentthrombosen aufweisen [43].

Auch bezüglich **anderer APP als CRP** existieren Studien: Neben CRP kann auch **AGP** als unabhängiger Indikator für die Progression der koronaren Arteriosklerose fungieren [340]. Die AGP Konzentration

zum ZP der Einlieferung in ein Krankenhaus ist in der Humanmedizin der Konzentrationsbestimmung von CRP überlegen, um das Mortalitätsrisiko älterer Patienten abzuschätzen [187]. **SAA** zeigte bei Patienten mit Koronarerkrankung ebenfalls signifikant höhere Konzentrationswerte als in der Kontrollgruppe und diese korrelieren mit den Konzentrationen von CRP, Hp und Fb sowie dem *body mass index*. Dennoch ist SAA als Marker dem CRP hinsichtlich der Detektion der Erkrankung unterlegen [108]. Es existiert eine signifikante Korrelation zwischen SAA Konzentrationen und der Prognose beim akuten MI [231]. Auch bei **Hp** handelt es sich um einen signifikanten Risikofaktor für einen akuten MI, für Schlaganfall und Herzversagen. Hp ist für den akuten MI ein besserer und für den Schlaganfall ein ähnlich guter prognostischer Marker wie Serumcholesterol [194]. In einer Proteomik-Studie waren niedrige Plasmalevel von Hp mit einer höheren New York Heart Association (NYHA) Klasse und somit mit einem nachteiligen Ausgang eines akuten Myokardinfarkts assoziiert [175].

2.5 Herzerkrankungen beim Hund

Ca 11% von 7000 Hunden leiden an einer Herzerkrankung und kardiovaskuläre Erkrankungen sind ein signifikanter Mortalitätsgrund bei Hunden. Geschätzt 11% der kaninen Population verstirbt aufgrund kardialer Probleme [36, 101].

2.5.1 Kongenitale Herzerkrankungen

Kongenitale Herzerkrankungen sind definiert als morphologische Defekte des Herzens oder der assoziierten großen Gefäße zum ZP der Geburt. Diese Abnormalitäten werden durch Veränderungen sowie Arreste in speziellen Phasen der embryonalen Entwicklung des fetalen Herzens verursacht. Dies kann genetisch bedingt sein, oder seltener, durch eine spontane oder sekundäre (durch Medikamente oder Toxine bedingte) Mutation ausgelöst werden [292]. Das Herz ist das erste Organ, das sich während der Entwicklung der Vertebraten formiert und Fehlbildungen des Herzens und der Blutgefäße machen den größten Prozentsatz der humanen Geburtsdefekte aus und kommen auch in der Veterinärmedizin häufig vor [460]. Kongenitale Herzerkrankungen kommen mit einer niedrigen Inzidenz von <1% in der generellen Hundepopulation vor. In einer Studie aus Italien wurden aber bei 976 von 4480 Hunden (21,7%) und in einer Studie aus der Schweiz bei 146 von 620 Hunden (23,5%), die zur kardialen Untersuchung vorgestellt wurden, kongenitale Herzerkrankungen festgestellt [36, 364]. Die Prävalenz kardiovaskulärer Fehlbildungen bei Hunden, die an der Universität *Pennsylvania* vorgestellt wurden, betrug 6,8% [379]. Kardiovaskuläre Fehlbildungen sind daher ein bedeutender Grund für Mortalität und Morbidität bei Hunden unter einem Jahr.

Die am häufigsten vorkommenden Abnormalitäten sind persistierender Ductus arteriosus Botalli (PDA), Pulmonalstenose (PS), Subaortenstenose, Ventrikelseptumdefekt und Fallot'sche Tetralogie. Diese Defekte machen zusammen 72% aller Fälle aus [311, 364, 379].

Während bis vor kurzem nur invasive chirurgische Eingriffe zur Verfügung standen, um gewisse angeborene und erworbene Herzerkrankungen zu korrigieren oder palliativ zu behandeln, besteht nun auch in der Veterinärmedizin die Möglichkeit, minimalinvasive Kathetereingriffe durchzuführen. Die minimal invasive Ballondilatation (BD) der PS sowie die Katheterembolisation des PDA sind mittlerweile etablierte Eingriffe [164].

2.5.1.1 Persistierender Ductus arteriosus Botalli

Der Ductus Arteriosus ist eine physiologische fetale Verbindung, in der Blut zwischen Pulmonalarterie (PA) und Aorta *shunted*. Er dient in der Fetalzeit der Umgehung des Lungenkreislaufs. Beim Welpen schließt sich der Ductus normalerweise innerhalb der ersten Lebensstage funktionell und in der Folge auch anatomisch [199]. Der PDA entsteht durch einen nicht stattfindenden Verschluss des Ductus Arteriosus, sodass eine fehlerhafte postnatal bestehende Kurzschlussverbindung zwischen Aorta descendens und PA besteht [59, 476, 477]. Der Ductus ist kürzer als normal und die Ductusmuskulatur hypoplastisch und asymmetrisch [54, 59]. Bei einer abnormalen Entwicklung der Ductusmuskulatur gelingt trotz Anstieg der arteriellen Sauerstoffspannung keine komplette Konstriktion des Ductus [156]. Bei Hunden mit einem PDA erfolgt aufgrund der Druckverhältnisse in Aorta und PA überlicherweise ein links-rechts-Shunt und somit ein kontinuierlicher Blutfluss von der Aorta in die PA. Das resultiert in einer exorbitanten linksventrikulären Volumenüberladung, welche in der Folge zu einer Hypertrophie des linken Ventrikels, zur Stauungsinsuffizienz und zum kongestiven Linksherzversagen führt. In schweren Fällen tritt sekundär durch die Erweiterung der linken Herzkammer eine Mitralklappeninsuffizienz mit Dilatation des linken Vorhofs auf, was die Kongestion der Lunge verstärkt. Unkorrigiert führt dies in der Regel zu einer deutlich verkürzten Lebenserwartung. Wenn ein Verschluss eines PDAs nicht vorgenommen wird, liegt die Sterblichkeit innerhalb eines Jahres nach Diagnosestellung des kongestiven Herzversagens bei 64%. Durch den progressiven Verlauf der Volumenüberladung empfiehlt es sich, möglichst frühzeitig einen Verschluss mit vollständiger Unterbindung des Blutflusses durch den Ductus durchzuführen [164, 186, 379, 442]. In seltenen Fällen (6 von 237 Hunden) entsteht aufgrund umkehrender Druckverhältnisse ein reverser PDA mit Differentialzyanose. In diesem Fall ist ein Verschluss kontraindiziert [364].

Der PDA ist einer der am häufigsten diagnostizierten kongenitalen Herzerkrankungen des Hundes. Die **Vorkommenshäufigkeit** ist je nach geographischem Gebiet unterschiedlich. In einer zweijährigen

Studie aus unserem Haus waren PS mit 19% und PDA mit 11% die häufigsten kongenitalen Erkrankungen beim Hund [420].

Signalement

Beim PDA gelten gemäß Literatur mit unterschiedlicher geographischer Häufung sehr viele **Rassen** als gefährdet [36, 364, 379, 442, 460, 476, 477].

Epidemiologische Studien lassen auf einen genetischen Faktor bei der Vererbung des PDAs schließen. Trotz des erblichen Aspekts des PDAs, kommen viele Mischlingshunde vor. Die Verwandten eines Hundes mit PDA, vor allem die Eltern, die Nachkommen und die Geschwister sollten auf das Vorliegen eines PDAs untersucht und Hunde sollten bei einem vorliegenden PDA, unabhängig von der Rasse, nicht zur Züchtung eingesetzt werden [59, 379, 477].

Das **Alter** zum ZP der Diagnose liegt je nach Studie zwischen zwei Monaten und fünf Jahren (Median 15 Monate) [36]. In einem Artikel bei dem 98 Hunde mit PDA ausgewertet wurden, waren 40% der Hunde zum ZP der Vorstellung älter als ein Jahr und 31% hatten klinische Symptome [477]. Die **Geschlechtsverteilung** war bei Baumgartner et al. ausgeglichen, wobei in anderen Studien dreimal mehr weibliche als männliche Tiere betroffen waren [36, 364, 379, 413, 477].

Symptome, klinische Untersuchung und Diagnose

Klinische Symptome treten in Abhängigkeit von Ductusgröße und Alter des Tieres auf. Neben asymptomatischen Tieren kommen auch Hunde mit Leistungsinsuffizienz, Husten und Dyspnoe vor. In der klinischen Untersuchung findet sich klassischerweise (>90%) ein kontinuierliches Herzgeräusch (HG) mit dem Grad 4/6 oder höher über der linken Herzbasis. Bei einem schmalen PDA kann dies sehr lokalisiert vorkommen. Mitralklappeninsuffizienz durch Mitralklappendilatation sowie Verlagerung der Papillarmuskeln entsteht sekundär durch die ventrikuläre Volumenüberlastung. Das erklärt das bei 25% der Tiere zusätzlich vorkommende Systolikum. Bei 75% der Hunde fand sich ein hyperkinetischer Puls [442, 477]. Typische Befunde des Elektrokardiogramms (EKG) sind hohe R-Zacken und tiefe Q-Zacken, im Röntgenbild sieht man klassischerweise (je nach Studie allerdings nur in 26% der Fälle) eine Dilatation der Aorta descendens, Erweiterung der PA und des linken Atriums und ggf. Anzeichen eines Linksherzversagens. Eine Echokardiographie sollte so früh wie möglich zur Bestätigung der Verdachtsdiagnose durchgeführt werden [379, 442, 477].

Therapie

Eine initiale medikamentelle Therapie sollte bei vorhandenem kongestiven Herzversagen in Form von Diurese und *Angiotensin-Converting-Enzyme* (ACE)-Hemmung erfolgen. Es sollte eine ätiologische Therapie angeschlossen werden. Historisch ist die chirurgische Ligation die Standardmethode zur Korrektur des PDAs und wird seit > 40 Jahren bei unkomplizierten Fällen mit guter Erfolgsrate durchgeführt. Die Verschlussrate nach chirurgischer Behandlung beim Hund schwankt je nach

Technik und Größe sowie Morphologie des Ductus zwischen 55% und 95%. Die Erfolgsquoten verschlechtern sich auf ca. 60% bei Patienten mit Kongestion. Treten perioperative Komplikationen wie Blutungen auf, liegt die Prävalenz des perioperativen Todes bei 40% bis 100% [48, 186, 189]. 1967 wurde der erste PDA bei einem Kind transvaskulär verschlossen, der erste transvaskuläre Verschluss beim Hund folgte 1992 [67, 390]. Die Kathetertechnik stellt mittlerweile eine sichere, effektive, kostengünstige und weniger invasive Alternative zum chirurgischen Verschluss des PDAs dar. Kleinere Komplikationen ohne klinische Auswirkungen treten zwar häufiger beim Kathetereingriff als beim chirurgischen Eingriff auf (12 versus 26%), aber der Kathetereingriff geht mit einer niedrigeren Morbidität und Mortalität einher und ist mittlerweile die Therapie der Wahl in der Humanmedizin und auch für die meisten Veterinärkardiologen. Nach Verschluss ist die Kurzzeitprognose mit 92% bis 95% gut [48, 68, 163, 164, 168, 434, 454, 463, 477].

Die interventionelle Behandlung besteht im Verschluss des offenen Ductus durch Einlegen von Thrombose-förderndem Material. Größe und Morphologie des PDAs beeinflussen die Auswahl von Art, Sitz und Anzahl der *devices* sowie das Risiko für deren Dislokation, Hämolyse und den Verschlusserfolg [163, 327, 418]. Es kommen verschiedene *devices* (thrombogene *coils*, *Amplatz Duct Occluder*, *Amplatz Canine Duct Occluder* (ACDO)) sowie transvenöse und transarterielle Zugänge vor. Alle Techniken haben potentielle Limitationen und können Komplikationen verursachen [434]. [48, 163, 164, 417]. Die Erfolgsraten bei den einzelnen *devices* sind vergleichbar, aber bei den Hunden, die mittels ACDO verschlossen wurden, zeigten sich signifikant weniger Komplikationen. Der limitierende Faktor ist die Patientengröße, bei sehr kleinen Hunden blieben *coils* die einzige Wahl für den interventionellen Verschluss [434]. Mit dem ACDO wird bei 94% der kaninen Patienten ein kompletter Verschluss erreicht. Diese Methode ist jedoch mit höheren Kosten verbunden [189, 355]. Auch Meijer et al. sowie Gordon et al. beschreiben den ACDO als die sicherste und effektivste Methode mit den wenigsten Komplikationen [169, 170, 320].

Es existieren verschiedene **follow up** Studien. Diese zeigen, dass die Langzeitprognose gerade in unkomplizierten Fällen nach PDA-Verschluss gut ist und eine deutliche Verbesserung der Überlebenszeit erbringt. Durch das *remodelling* des Myokardgewebes resultiert auch eine exzellente Langzeitprognose. [68, 189, 413, 476].

Laut van Israel et al. gab es signifikante Unterschiede in der **Überlebenszeit** der mittels Verschluss behandelten und der nicht mittels Verschluss behandelten Gruppe. So lag die maximale Überlebenszeit nach Verschluss bei 168 Monaten, ohne Verschluss bei 114 Monaten. Das Vorkommen eines kleinen *Restshunts* beeinflusst die Überlebenszeiten nicht. Die Entwicklung einer Mitralklappenendokardiose ist wahrscheinlich der kompromitierende Faktor beim *outcome* der Patienten mit PDA [476]. Bei Saunders et al. lag die mediane Überlebenszeit bei 456 Hunden, bei

denen der PDA verschlossen wurde, bei 25,1 Monaten (*range* ein Tag bis 193,2 Monate). In dieser Studie wurde errechnet, dass ein PDA-Verschluss bei einem Hund ohne weiteren kongenitalen Herzdefekt im Median zehn Jahre verlängerte Lebenszeit erbringt [413].

2.5.1.2 Pulmonalstenose

Die kongenitale PS, ein häufiger Herzfehler beim Hund, wird durch eine kongentiale Striktur des rechtsventrikulären Ausflusstrakts, Einschnürung des Pulmonalarterien-Ostiums oder Fusion der Segel der Pulmonalklappen und infundibulärer Hypertrophie bedingt. Die Stenose kann supravulvulär, valvulär oder subvalvulär sein. Bei den meisten Hunden handelt es sich um eine rein valvuläre Stenose, verursacht durch dysplastische Klappen, welche zum Teil verkleben und fusioniert sind und dadurch den Herzausfluss behindern. Durch die Stenose kann eine adäquate Blutversorgung der Lunge nicht gewährleistet werden und es kommt zur pulmonalen Minderperfusion. Infolge des so entstehenden turbulenten Blutstromes kommt es zur Dilatation des Pulmonalarterienstammes während die gesteigerte Druckbelastung des rechten Herzens zur konzentrischen Hypertrophie des rechten Ventrikels führt [149, 164].

Um eine PS zu diagnostizieren und den Schweregrad einzuschätzen wird die Messung des Druckgradienten über der Pulmonalklappe ausgenutzt. Doppler basierte echokardiographische Messungen sind 40% bis 50% höher als intrakavitäre Messungen im Rahmen des Kathetereingriffs. Ein Effekt, der vermutlich anästhesiebedingt ist. Systolische Spitzendruckgradienten von <50 mmHg bei bei intrakavitären Messungen gelten als milde PS, Gradienten zwischen 50 und 80 mmHg als mgr. und Gradienten >80 mmHg als schwere PS [64]. Für Druckgradienten, welche mittels Spektraldoppleruntersuchung analysiert werden, gilt ein Druckgradient <50 mmHg (normal <20 mmHg) als ggr. und hat keinen messbaren Einfluss auf die Belastbarkeit und die Lebenserwartung. Meist liegt keine oder eine ggr. rechtsventrikuläre Hypertrophie vor. Ein Spitzengradient von >80 bis 100 mmHg gilt als hgr. und geht mit verminderter Belastbarkeit und Lebensdauer einher. In diesem Fall zeigt sich eine moderate bis hgr. konzentrische rechtsventrikuläre Hypertrophie. Mgr. Gradienten liegen zwischen 50 und 80 mmHg und in diesen Fällen ist oft eine milde bis moderate rechtsventrikuläre Hypertrophie eine Folgeerscheinung [143, 164, 223, 224, 442].

Bei schwerwiegenden Stenosen kann sich durch eine kompensatorische Rechtsherzhypertrophie zusätzlich eine dynamische infundibuläre Ausflusstraktobstruktion entwickeln, welche die Stenose verschlimmert und das Risiko eines Eingriffs erhöht. Deshalb empfiehlt sich in diesem Fall ein frühzeitiger Eingriff [164, 442].

Als Komplikationen kommen sowohl Hypoplasien des Anulus als auch Koronararterienanomalien vor. Eine milde bis hgr. Trikuspidalklappenregurgitation ist bei 39% der Hunde zu finden. Viele dieser Hunde werden mit einer zusätzlichen Trikuspidalklappendysplasie vorgestellt.

Vorkommenshäufigkeit

In einer retrospektiven italienischen Studie kam die PS mit 32,1% am häufigsten vor [364]. In Schweden bzw. in der Schweiz war die PS mit 20% bzw. 23,3% die zweithäufigste kongenitale Herzerkrankung beim Hund [36, 460].

Signalement

Insgesamt wird die PS eher bei mittleren und kleinen Hunderassen diagnostiziert [164]. Es existieren Prädispositionen für verschiedene Rassen. [36, 64, 143, 223, 224, 364, 379, 442]. Englische Bulldoggen weisen außerdem zusätzlich häufig eine abnormale rechte Koronararterie auf, was therapeutisch relevant ist [58, 364]. Der linke Ast umrandet den Pulmonaltrunk genau unter der Klappe und verursacht eine subvalvuläre Stenose [64]. Eine hereditäre Form der Pulmonalklappendysplasie wurde für den Beagle und Boykin Spaniel nachgewiesen [64, 379].

Männliche Tiere sind leicht überrepräsentiert [64, 143, 364]. Das **Alter** zum ZP der Diagnose einer PS liegt idR zwischen zwei Monaten und vier Jahren (Median: sieben Monate) [36]. Bei Francis et al. sind 72% der Hunde bei Diagnosestellung >20 Monate und das mediane Alter zum ZP der Erstvorstellung liegt bei elf Monaten [143].

Symptome, klinische Untersuchung und Diagnose

Je nach Literaturstelle zeigen nur 25% der Tiere zum ZP der Erstvorstellung klinische Symptome, betrachtet man die Tiere mit schwerer Stenose gesondert, sind es 50% [143]. Hunde mit hgr. PS haben ein hohes Risiko klinische Symptome wie Leistungsschwäche, Synkope oder plötzlichen Herztod (häufig ohne vorherige Symptome) zu entwickeln. Es kommen aber auch asymptomatische Tiere vor. Auch Anzeichen des Rechtsherzversagens mit Aszites und Jugularvenenstauung können auftreten, dies vor allem bei Hunden mit Trikuspidalklappendysplasie. Hunde die zum ZP der Vorstellung klinische Symptome aufweisen, haben verglichen mit asymptomatischen Hunden, ein 16-fach erhöhtes Risiko an der Erkrankung zu sterben [64, 149, 223, 224, 442]. 50% der Hunde mit hgr. PS, 10% der Tiere mit mgr. Stenose und 4% der Tiere mit milder Stenose erleiden einen kardialen Tod. Eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für einen kardialen Tod weisen Hunde mit PS auf, die einen Druckgradienten von >60 mmHg zeigen. Ein Druckgradient >60 mmHg war mit einer 86%igen Sensitivität und einer 71%igen Spezifität Prognose eines kardialen Todes. Das Vorkommen einer Trikuspidalklappenregurgitation war ebenfalls ein unabhängiger, negativ-prognostischer Faktor [143].

PS weisen ein systolisches HG auf Höhe der linken Herzbasis auf. Röntgenologisch und elektrokardiographisch zeigen sich Anzeichen von Rechtsherzvergrößerung und im Röntgen zum Teil eine poststenotische Dilatation des Pulmonalarterienstamms. Die Diagnose muss mittels Doppler Echokardiographie bestätigt werden [64, 379, 442]. Die Echokardiographie erlaubt auch die Feststellung des Typs der PS und das Vorhandensein von Koronararterienabnormalitäten. Um eine derartige Anomalie zu bestätigen, sollte eine linksseitige Angiographie durchgeführt werden [64].

Therapie

Eine symptomatische konservative Therapie besteht bei ausgeprägter Hypertrophie in einer β -Blockade, bei einem Rechtsherzrückwärtsversagen in einer Diurese. [224]. Heutzutage werden weltweit jährlich ca 25.000 Valvuloplastien in der Humanmedizin durchgeführt. Bevor 1982 die erste BD einer Herzklappe bei einem Kind durchgeführt wurde, wurde die erste BD einer Pulmonalklappe im Jahre 1980 bei einem Hund (Englische Bulldogge) mit angeborener PS und deutlicher Rechtsherzhypertrophie getestet [58]. Mittlerweile ist die BD bei der kaninen PS die Therapie der Wahl und wird bei symptomatischen oder asymptomatischen hgr. Fällen mit moderater oder schwerer rechtsventrikulärer Hypertrophie oder dem zusätzlichen Vorkommen einer signifikanten Trikuspidalklappendysplasie mit hgr. rechtsatrialer Dilatation empfohlen. Diese Fälle entwickeln oft ein Rechtsherzversagen und die BD sollte erfolgen bevor Symptome manifest werden [55, 64, 223, 224, 442]. Ein therapeutischer Eingriff ist hingegen bei ggr. PS nicht sinnvoll. Bei mgr. PS sollte die Entscheidung für oder gegen eine Therapie von den klinischen Symptomen sowie dem Schweregrad der sekundären echokardiographischen Herzveränderungen abhängig gemacht werden [164].

Einschränkung für den Eingriff ist die anatomische Besonderheit der einzeln abgehenden Koronararterien. Werden aberrante Koronararterien nicht erkannt, kann die BD durch Ruptur der Koronararterie zum Tod führen. Daher sollte vorher immer eine Koronarangiographie durchgeführt werden [58, 164, 224]. Prognostisch relevant ist weiterhin das Vorliegen einer Hypoplasie des Pulmonalklappenanulus und kann die Entscheidung für die Durchführung einer BD beeinflussen [224].

Die interventionelle Behandlung besteht in einer Sprengung der fusionierten dysplastischen Klappe mit Hilfe eines speziellen Ballons [164]. Die **Erfolgskontrolle** erfolgt zunächst durch fluoroskopische Betrachtung sowie einem messbaren Anstieg des systemischen Blutdrucks. Zur exakteren Quantifizierung der hämodynamischen Verbesserung wird der rechtsventrikuläre Druck nach der Ballonierung mit den Werten zu Beginn des Eingriffs verglichen. Bei unbefriedigendem Druckabfall wird diese Ballonierung mit einem größeren Ballon wiederholt [164]. Da eine BD die PS nicht heilt, wird von einem erfolgreichem *outcome* gesprochen, wenn eine dauerhafte Reduktion des Druckgradienten und eine verbesserte Lebensqualität für den Hund erreicht wird. Die Definition

eines erfolgreichen Eingriffs ist eine mehr als 50%ige Reduktion des Druckgradient ausgehend vom Ausgangspunkt oder ein finaler Druckgradient < 80 mmHg bzw. direkt postoperativ < 50 mmHg. Der Gradient wird sich allerdings nicht vollständig normalisieren und das HG bleibt auch nach der Intervention bestehen. Pulmonalklappeninsuffizienzen kommen nach der BD häufig vor, diese sind aber meist nicht klinisch relevant. Der therapeutische Erfolg bleibt Tieren ohne hgr. Trikuspidalklappeninsuffizienz vorbehalten [55, 149, 164, 223, 442].

Die **chirurgische** Behebung einer PS kann in Anbetracht der schlechten Prognose und der Invasivität verglichen mit der BD nur dann empfohlen werden, wenn eine BD erfolglos bleibt (z.B. stark verformte dysplastische Klappensegel, Hypoplasie des Pulmonalklappenrings oder signifikanter infundibulärer Muskelbeteiligung, die zur Ausflusstraktobstruktion führt) oder technisch nicht möglich (bei supralvalvulären oder subvalvulären PS oder Hunden mit Koronararterienabnormalitäten) ist [55, 149, 149, 164, 223, 442].

Eine retrospektive Studie, die bei 172 Hunden mit PS die Überlebenszeiten und Risikofaktoren evaluierte, kam zum Ergebnis, dass signifikant negativ prognostische Faktoren bezüglich der Überlebenszeiten klinische Symptome und ein jüngeres Alter zum ZP der Diagnose waren. Wurden die Hunde, die einer BD unterzogen wurden, einzeln betrachtet, war zusätzlich der Dopplergradient negativ mit der Überlebenszeit korreliert [286]. Die **Erfolgsaussichten** mittels BD die Druckverhältnisse permanent nachhaltig zu verbessern sind gut. Verschiedene Studien zeigen, dass die BD der PS in einer Reduktion des Druckgradienten und einer Verbesserung der klinischen Symptome sowie der Lebenserwartung resultiert [64, 223, 224]. Ristici et al. konnten keine verbesserte Überlebensrate im Vergleich zu Hunden ohne BD finden. Allerdings zeigten die therapierten Hunde eine Reduktion des Druckgradienten und der klinischen Symptome und somit eine verbesserte Lebensqualität [402]. In einer größeren retrospektiven Studie war die prozentuale Zwei-Jahres-Überlebensrate nach BD mit 94% signifikant besser als die Rate ohne Behandlung mit 65% [164]. Auch Schrope und Donald sprechen von einer exzellenten Erfolgsrate [421].

2.5.2 Entzündungsmarker und kanine Herzerkrankungen

Die Stimulation mit Entzündungsmediatoren verursacht einen zeitabhängigen Anstieg des linksventrikulären *remodellings* im Tiermodell des Herzversagens. Zudem wird die induzierbare NO-Synthase durch CRP zum Teil stimuliert, was eine mögliche Rolle des CRPs bei kardialen Erkrankungen des Hundes aufzeigt [53, 284, 482].

Zois et al. untersuchten den Einfluss der Zytokine auf die Pathophysiologie der myxomatösen Mitralklappenerkrankung beim Hund. Die Resultate der Studie suggerieren, dass das *monocyte chemoattractant protein-1* in die Pathogenese des kongestiven Herzversagen (CHF) durch

myxomatöse Mitralklappenerkrankung beim Hund involviert ist, während die *down*-Regulation von IL-2, IL-7 und IL-8 beim Cavalier King Charles Spaniel (CKCS) mit ansteigenden Graden der myxomatösen Mitralklappenerkrankung korreliert. Die Resultate suggerieren eine Rolle der Zytokine in der kaninen myxomatösen Mitralklappenerkrankung und dem CHF [527]. Studien, die CRP Konzentrationen bei Hunden mit Mitralklappeninsuffizienz untersucht haben, erbrachten unterschiedliche Ergebnisse. Ljungvall et al. untersuchten potentielle Assoziationen zwischen Troponin I und CRP und dem Schweregrad der myxomatösen Mitralklappenerkrankung. Es zeigten sich signifikante Assoziationen zwischen dem Alter, der CRP Konzentrationen, der Herzfrequenz sowie dem linksventrikulären enddiastolischen Diameter und der Troponin I Konzentrationen. Die CRP Konzentrationen unterschieden sich nicht zwischen den verschiedenen Schweregraden der Erkrankung, waren aber signifikant mit der Troponin I Konzentration, der Rasse und dem systemischen Blutdruck assoziiert. Laut Ljungvall et al. ist CRP kein sensitiver Biomarker für die Evaluation der myxomatösen Mitralklappenerkrankung beim Hund [284]. In einer Studie von Rush wurden signifikant erhöhte CRP-Plasmakonzentrationen bei Hunden mit myxomatöser Mitralklappenerkrankung im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe gefunden. Die CRP Konzentration war nicht mit dem Vorhandensein von kongestivem Herzversagen oder dem Schweregrad des Herzgeräusches verbunden. Die Ergebnisse sprechen für einen zugrundeliegenden systemischen Entzündungsprozess. Durch die große Überlappung zwischen den CRP Konzentrationen bei gesunden Hunden und solchen mit chronischer Klappenerkrankung, hat die Konzentration von CRP keine ausreichende Sensitivität und Spezifität, um als *screeningtest* für chronische Klappenerkrankungen genutzt zu werden [409]. In einer ganz aktuellen Studie untersuchten Polizopoulou et al. unspezifische Entzündungsreaktionen beim CHF durch die Bestimmung der Konzentrationen von CRP, Hp und Cp. Es sollte untersucht werden ob verschiedene International Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC) Stadien des CHF bedingt durch degenerative Mitralklappenerkrankung mit unterschiedlichen APP Konzentrationen einhergeht. Es bestand ein signifikanter Unterschied bezüglich Hp und CRP zwischen ISACHC Gruppe eins (asymptomatisch) und Gruppe drei (fortgeschrittenes CHF). Im *follow up* über vier Monate sank CRP signifikant. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass eine klinisch und therapeutisch relevante inflammatorische Komponenten bei der Mitralklappenerkrankung des Hundes vorkommt und serielle CRP Messungen dazu geeignet sein könnten die Progression der Erkrankung sowie das Ansprechen auf die Therapie zu beurteilen. Auch in dieser Studie bestand eine signifikant positive Korrelation zwischen Troponin I und CRP [388]. Signifikant erhöhte CRP Konzentrationen finden sich laut Nakamura et al. bei kardialer Tamponade, aber nicht bei Mitralklappeninsuffizienzen [348]. Cunningham et al. untersuchten bei Hunden mit natürlich vorkommendem CHF durch DCM oder Mitralklappeninsuffizienz und gesunden

Hunden die endotheliale Funktion. Sie zeigten, dass Hunde mit CHF erhöhte Plasma CRP und N-terminales *pro brain natriuretic peptide* (NT-proBNP) Werte aufweisen. Hunde mit CHF hatten signifikant höhere CRP Konzentrationswerte verglichen mit den Konzentrationen der gesunden Kontrollgruppe. Alter, Rasse und Körpergewicht waren nicht signifikant mit dem Plasma CRP verbunden. In der Multivarianzanalyse wurde eine Assoziation zwischen der CRP Konzentration, NT-proBNP, der Mitral E-Welle Velocity, dem Schweregrad der Mitralklappenregurgitation und der linken Vorhofgröße gefunden. Hunde mit DCM hatten höhere CRP Konzentrationen verglichen mit Hunden mit Mitralklappeninsuffizienz. Auch in dieser Studie wurde eine Assoziation zwischen der CRP Konzentration und dem systolischem Blutdruck festgestellt. Es zeigte sich eine inverse Beziehung zwischen der Konzentration von CRP und dem systolischen hyperämischen *velocity time integral*. Dieses könnte für einen möglichen Zusammenhang zwischen systemischer Entzündung und einer beeinträchtigten mikrovaskulären Endothelfunktion bei Hunden mit CHF sprechen. Obwohl die Mechanismen, die zur endothelialen Dysfunktion beim Herzversagen führen noch nicht vollständig geklärt sind, ist bekannt, dass erhöhter oxidativer Stress und systemische Inflammation eine Rolle in der Pathogenese der endothelialen Dysfunktion und der Progression des CHF spielen. CRP dient sowohl als Marker und Mediator der systemischen Inflammation als auch der endothelialen Dysfunktion. Die Resultate der Studie zeigen, dass die CRP Konzentration mit dem Schweregrad des CHF beim Hund ansteigt, wie dies auch für den Menschen bekannt ist. Weitere Forschung ist nötig um herauszufinden, ob die systemische Entzündung eine Rolle in der Pathogenese und Progression von spontanen kardialen Erkrankungen beim Hund spielt [101].

Auch bei der Dirofilariose spielen APP ein Rolle [74, 323, 481, 521]. CRP Konzentrationen korrelieren mit dem Schweregrad der Erkrankung [74] und können zum Therapiemonitoring mittels Doxycyclin, Ivermectin (Abfall durch Reduktion der vaskulären Inflammation, Reduktion der Mikrofilarien und Elimination der Wolbachien) und Melarsomin (erst Anstieg durch pulmonale Inflammation sowie Thrombembolien durch Absterben der adulten Dirofilarien, anschließend Abfall bis zum Teil in den Referenzbereich) genutzt werden [323]. Der Anstieg der CRP Konzentration im Rahmen der Dirofilariose kann durch den PA Schaden erklärt werden. Die Höhe der CRP Konzentration hängt eher vom Ausmaß der Arterienverletzung/pulmonalen Hypertension als von der Wurmbürde ab. CRP kann zum Staging und zum Monitoring sowie als prognostischer Marker der Erkrankung genutzt werden. In einer Studie von Venco et al. galten 23 Dirofilarien negative aber herzerkrankte Hunde als Kontrollgruppe. Auch hier zeigten die Hunde mit pulmonaler Hypertension (oder DCM) signifikant höhere CRP Konzentrationen, so dass CRP in Zukunft als Marker für pulmonale Hypertension eingesetzt werden könnte [481].

Saunders et al. untersuchten die kardialen Troponin I und CRP Konzentrationen bei Hunden mit schwerer PS vor (n= 23) und nach BD (n=16). Die Basalkonzentrationen von Troponin I und CRP waren bei 30,4% bzw. 34,8% der Hunde erhöht [415].

Es zeigen sich also signifikante Veränderungen der Konzentration der Entzündungsmarker bei natürlich vorkommenden Herzerkrankungen des Hundes.

2.6 Hintergrund und Fragestellung der wissenschaftlichen Arbeit

Aus der Literaturrecherche geht hervor, dass APP sehr sensitive Indikatoren für Inflammationen unterschiedlicher Ursache beim Hund sind. Entzündungen können bei der Pathophysiologie von Herzerkrankungen eine Rolle spielen und erhöhte CRP Konzentrationen wurden bei Hunden mit erworbenen Herzerkrankungen sowie PS dokumentiert. Auch der Kathetereingriff zur Therapie von PDA und PS könnte zu Inflamationsreaktionen führen.

Es existiert in der Veterinärmedizin nach Wissen der Autorin nur eine Studie zur CRP Konzentration vor und nach Ballondilatation von Pulmonalstenosen beim Hund. Die Konzentrationen nach der Ballondilatation waren sowohl bei Troponin I als auch bei CRP signifikant höher als vor dem Eingriff [415]. Serielle Konzentrationsmessungen mehrerer APP nach Kathetereingriffen zur Korrektur kongenitaler Defekte wurden bisher weder für PS noch für den PDA durchgeführt. Der Effekt eines PDA auf die Entzündungsparameter sowie der Verlauf der Entzündungsparameter nach BD einer PS bzw. interventionellem Verschluss eines PDAs beim Hund sind nicht bekannt aber zur Erkennung von Komplikationen wichtig zu beschreiben.

Auf dieser Grundlage sollten folgende Fragen beantwortet werden:

Kommt es nach interventionellem Kathetereingriff zur Therapie des kaninen PDAs bzw. der PS zur Induktion einer systemischen APR?

Ist die APR abhängig von der Art des Eingriffes oder dem Vorliegen von Komplikationen?

Ist der Verlauf der Konzentrationen der APP zum Therapiemonitoring besser geeignet als klassische Entzündungsparameter?

Welches APP ist am besten geeignet, um den Verlauf der Entzündung zu evaluieren?

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Material und Methoden

Diese Studie wurde durch das Regierungspräsidium Giessen/Hessen unter dem Aktenzeichen (V 54 – 19 c 20-15 (1) GI 18/17-Nr.41/2010) genehmigt.

3.1.1 Patienten

Die eigenen Untersuchungen fanden an zehn Hunden mit PDA (Gruppe 1) und zehn Hunden mit PS (Gruppe 2) statt. Das Patientengut setzte sich aus Hunden verschiedener Rassen, verschiedenen Alters und unterschiedlichen Geschlechts zusammen. Die Tiere wurden im Zeitraum von August 2010 bis Februar 2012 in der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Katheterintervention vorgestellt. In die Untersuchung wurden Patienten aufgenommen, bei denen nach Anamnese, klinischer Untersuchung und Labordiagnostik mittels Bestimmung der CRP Konzentration, Hämatologie und klinischer Chemie vor dem Eingriff keine Hinweise auf inflammatorische Begleiterkrankungen bestanden. Aufgrund der mehrfachen Blutentnahmen und des daraus resultierenden Einflusses auf das Blutprobenvolumen wurden Hunde mit einem Körpergewicht < 10 kg ausgeschlossen.

3.1.2 Methodik

3.1.2.1 Untersuchungszeitpunkte

Die Blutprobenentnahmen sowie die klinischen Untersuchungen wurden wie folgt durchgeführt:

- Zeitpunkt t_{-1} : ZP der Erstvorstellung des Patienten
 - Ausführliche Anamnese und klinische Untersuchung
 - Hämatologie inkl. Differentialblutbild und morphologischer Beurteilung eines Blutausstrichs
 - Klinische Chemie
 - APP: CRP, Hp, AGP
- Zeitpunkt t_0 : während des Kathetereingriffs, 30 Min nach Intervention (d.h. nach Einsetzen des ACDOs bzw. der Dilatation der PS)
 - Evaluierung von Puls, Atmung und Körpertemperatur
 - Hämatologie inkl. Differentialblutbild und morphologischer Beurteilung eines Blutausstrichs

Klinische Chemie

APP: CRP, Hp, AGP

- Zeitpunkt t_1 : Tag 1 nach Kathetereingriff

Evaluierung von Puls, Atmung und Körperinnentemperatur

Beurteilung der Punktionsstelle (siehe Tab. 5)

Hämatologie

TP, Alb

APP: CRP, Hp, AGP

- Zeitpunkt t_2 : Tag 2 nach Kathetereingriff

Evaluierung von Puls, Atmung und Körperinnentemperatur

Beurteilung der Punktionsstelle (siehe Tab. 5)

Hämatologie

TP, Alb

APP: CRP, Hp, AGP

- Zeitpunkt t_3 : Tag 3 nach Kathetereingriff

Evaluierung von Puls, Atmung und Körperinnentemperatur

Beurteilung der Punktionsstelle (siehe Tab. 5)

Hämatologie inkl. Differentialblutbild und morphologischer Beurteilung eines

Blutausstrichs

Klinische Chemie

APP: CRP, Hp, AGP

- Zeitpunkt t_4 : Tag 4 nach Kathetereingriff

Evaluierung von Puls, Atmung und Körperinnentemperatur

Beurteilung der Punktionsstelle (siehe Tab. 5)

Hämatologie

TP, Alb

APP: CRP, Hp, AGP

- Zeitpunkt t_5 : Tag 5 nach Kathetereingriff

Evaluierung von Puls, Atmung und Körperinnentemperatur

Beurteilung der Punktionsstelle (siehe Tab. 5)

Hämatologie

TP, Alb

APP: CRP, Hp, AGP

- Zeitpunkt t_6 : Tag 6 nach Kathetereingriff

Evaluierung von Puls, Atmung und Körperinnentemperatur

Beurteilung der Punktionsstelle (siehe Tab. 5)

Hämatologie inkl. Differentialblutbild und morphologischer Beurteilung eines Blutausstrichs

Klinische Chemie

APP: CRP, Hp, AGP

3.1.2.2 Probenentnahme und Probenaufbereitung

Die Blutprobenentnahme erfolgte zu den Zeitpunkten t_{-1} , t_0 und t_6 aus der Vena jugularis und zu den Zeitpunkten t_1 bis t_5 aus der Vena cephalica antebrachii oder Vena saphena. Die Befüllung der einzelnen Probengefäße erfolgte nach einem in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Biomathematik unter der Leitung von Herrn Akad. Dir. Dr. rer. nat. Klaus Failing festgelegten, randomisierten Schema.

Die Blutproben wurden auf ein Ethylendiamintetraessigsäure (K3-EDTA, 1 ml) Blutprobengefäß, zwei Lithium-Heparin-Blutprobengefäße (1,3 ml) und drei Serumblutprobengefäße (1 ml) verteilt.

Die K3-EDTA antikoagulierte Blutprobe wurde zur unmittelbaren hämatologischen Untersuchung herangezogen. Die Lithium-Heparin-Blutproben wurden unmittelbar nach Abnahme bei 3500 *rotations per minute* (rpm) für drei Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Das gewonnene Heparin-Plasma wurde durch Pipettieren separiert und unmittelbar zur Bestimmung der klinischen Chemie verwendet. Beide Untersuchungen wurden durch die Mitarbeiter/innen des Zentrallabors des Fachbereiches Veterinärmedizin der JLU Giessen durchgeführt. Da die Zeitpunkte t_4 und t_5 nicht während der Öffnungszeiten des Zentrallabors entnommen wurden, wurden diese Proben für 24 bzw. 48h bei +7°C gelagert und zusammen mit den Proben des ZP t_6 gemessen.

Die Serumproben wurden nach 30-minütiger Lagerung bei Raumtemperatur über drei Minuten bei 3500 rpm zentrifugiert und der Überstand gewonnen. Die AGP Messung wurde direkt im Anschluss durch die Autorin durchgeführt. Das gewonnene Serum für die CRP und Hp –Messungen wurde bei -80°C eingefroren und die Bestimmung der APP erfolgte innerhalb von 22 Monaten in *batch* im Zentrallabor.

3.1.3 Vorversuche

Zur Durchführung der Vorversuche wurde Restserum von Tieren verwendet, die zur Gesundheitskontrolle im Rahmen einer Blutspende in der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin bzw. zur präanästhetischen Untersuchung für eine radiologische Routineuntersuchung an der Klinik für Kleintiere, Chirurgie vorgestellt wurden. Für Konzentrationen im hohen pathologischen Bereich stand gefrorenes und asserviertes Serum von ehemaligen Patienten zur Verfügung.

3.1.3.1 C-reaktives Protein

3.1.3.1.1 Lagerungsversuch

Zur Bestätigung der in der Literatur [82, 282, 376] angegebenen langen Probenstabilität des CRPs wurde ein Lagerungsversuch durchgeführt. Serumproben wurden nach 30-minütiger Lagerung bei Raumtemperatur über drei min bei 3500 rpm zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. Die CRP Konzentrationen wurden in einer Doppelmessung sofort bestimmt. Im Anschluss wurden Aliquots bei +7°C, -20°C und -80°C gelagert. Die CRP Konzentrationen wurden wie in 3.1.4.4 beschrieben ermittelt. Abweichend davon wurden jedoch im Lagerungsversuch die kaninen CRP Konzentrationen mittels humanem, testspezifischen CRP Kalibrationsmaterial bestimmt. Da somit keine absoluten kaninen CRP Konzentrationen exakt ermittelt werden konnten, wurden relative CRP Konzentrationen in Prozent in Bezug auf den höchsten CRP Anfangswert (Tag 1, +7°C, Wert 1, entspricht 100%) bei den verschiedenen Temperaturen ermittelt. Die Lagerungsstabilität des CRPs wurde durch Bestimmung der relativen Konzentrationen nach unterschiedlicher Lagerungsdauer ebenfalls in Doppelmessung bestimmt (Tag 1, 5, 8, 15, 22, 29, 57, 85, 114 und 142).

3.1.3.1.2 Referenzwerte

Zur Erstellung haus- und testinterner Referenzwerte wurden 76 klinisch gesunde, adulte Hunde ohne Vorbericht einer akuten oder chronischen Erkrankung beprobt. Die Serumproben wurden nach 30-minütiger Lagerung für zehn min bei 3500 rpm zentrifugiert und im Anschluss direkt nach oben beschriebener Methode die CRP Konzentrationen bestimmt.

Statistik: Die Statistik wurde mithilfe des *Reference Value Advisor* Softwareprogramms¹ berechnet. Auch nach Box Cox Transformation waren die Daten nicht normalverteilt, weshalb ein nicht parametrischer Test verwendet wurde.

¹ Reference Value Advisor V2.1, Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse [158]

3.1.3.2 Haptoglobin

3.1.3.2.1 Wiederholbarkeit/Präzision

Es wurde die *intraassay* und *interassay* Wiederholbarkeit überprüft.

Statistik: Es wurden folgende Werte bestimmt: der Mittelwert (*mean*), die Standardabweichung (SD) und der CV.

Within-Run

Die *intraassay* Wiederholbarkeit wurde durch 20 direkt nacheinander durchgeführte Messungen von Patientenseren mit drei verschiedenen (hoch, mittel, niedrig) Hp Konzentrationen bestimmt.

Between-Run

Im Anschluss wurden aus denselben Proben des *within runs* jeweils 19 Aliquots bei -80°C eingefroren und je ein Aliquot pro Konzentrationsstufe in den folgenden 19 Tagen zur Berechnung der *interassay* Wiederholbarkeit bestimmt.

3.1.3.2.2 Referenzwerte

siehe 3.1.3.1.2

3.1.3.2.3 Linearität

Die Linearität wurde durch serielle Verdünnung einer Serumprobe mit physiologischer Hp Konzentration (A) mit einer Serumprobe mit hoher Hp Konzentration (B) in fünf Levels (Level 1: 100% A; Level 2: 75 A, 25% B; Level 3: 50% A, 50% B; Level 4: 25% A, 75% B; Level 5: 100% B) bestimmt. Alle Proben dieser fünf Konzentrationslevel wurden in Triplets gemessen.

Statistik: Der *mean* für alle Levels wurde bestimmt und die theoretischen Werte mit den tatsächlichen verglichen.

3.1.3.3 α 1-saures-Glykoprotein

3.1.3.3.1 Wiederholbarkeit/Präzision

Siehe 3.1.3.2.1

3.1.3.3.2 Referenzwerte

Siehe 3.1.3.1.2

3.1.4 Untersuchte Parameter

3.1.4.1 Anamnese

Berücksichtigt wurden bei der Anamnese insbesondere: Symptome der Grunderkrankung, Vorbehandlung, vorausgegangene andere Erkrankungen sowie aktuelle Symptome, die auf andere Erkrankungen hindeuten können.

3.1.4.2 Klinische Untersuchung

Die initiale Untersuchung umfasste eine eingehende allgemeine klinische Untersuchung sowie eine spezielle klinische Untersuchung des Herzkreislaufapparates, des Respirationstrakts, des Gastrointestinaltrakts, der Lymphknoten, des Geschlechtsapparates sowie von Haut- und Haarkleid. Bei den Folgeuntersuchungen zu den ZP $t_0/t_1/t_2/t_3/t_4/t_5$ und t_6 wurden die rektale Körpertemperatur in °C sowie die Atem- und Pulsfrequenz pro Minute bestimmt. Ein Punktescore (ungestört („0“), ggr. gestört („1“), mgr. gestört („2“) oder hgr. gestört („3“) diente zur Evaluierung des Allgemeinbefindens. Weiterhin wurde vermerkt, ob zusätzliche pathologische Befunde vorlagen (bewertet mit „1“ und einer Extraerläuterung) oder nicht (bewertet mit „0“).

3.1.4.3 Beurteilung Punktionsstelle

Die Punktionsstelle wurde ab dem ZP t_1 täglich nach folgendem Schema beurteilt.

Tabelle 5: Bewertung der Punktionsstelle

Parameter	Score-Punkte	Erläuterung
Schwellung	0	Nicht sichtbar oder fühlbar
	1	Nicht sichtbar, aber fühlbar
	2	Sichtbar und fühlbar
Fläche	0	Nicht sichtbar
	1	<2 cm
	2	2 bis 4 cm
	3	>4 cm
Wärme	0	Nicht vermehrt warm
	1	Vermehrt warm
Konsistenz	0	Nicht fühlbar
	1	Weich, leicht eindrückbar
	2	Gespannt, eindrückbar
	3	Hart, nicht eindrückbar
Schmerzhaftigkeit	0	Nicht schmerzhaft
	1	Bei Palpation schmerzhaft
	2	Bei leichter Berührung schmerzhaft

3.1.4.4 C-reaktives Protein

Die Bestimmung der CRP Konzentration erfolgte mittels automatisierter immunoturbidimetrischer Methode am *benchtop analyser* für klinische Chemie ABX Pentra². Bei dem verwendeten Testkit handelte es sich um einen *assay* der Firma Randox³, der einen in Ziegen hergestellten humanen, polyklonalen anti-CRP-Ak verwendet. Diese humanmedizinische Methode wurde bereits im Vorfeld durch Klenner et al. in unserem Haus für den Hund validiert [253]. In der vorliegenden Studie wurde speziesspezifisches Kalibrations- und Kontrollmaterial verwendet und einige Aspekte der speziesspezifischen Validierung wiederholt (siehe 3.1.3 Vorversuche). Es wurde kommerziell erhältliches gereinigtes Kalibrationsmaterial⁴ eingesetzt. Als Kontrollmaterial wurde kanines Plasma einer bekannten im hochpathologischen Bereich sowie eine kommerziell erhältliche Kontrolle⁵ nahe des klinischen Entscheidungslevels verwendet.

Durch die Verwendung des polyklonalen Aks gegen humanes CRP zur Detektion von kaninem CRP können sich *batch-to-batch* Variationen in Bezug auf die Kreuzreaktion stärker auf die Detektion des kaninen CRP auswirken. Deshalb wurden die Proben zusammen unter Verwendung nur eines *batches*, das vorher den Validierungsmessungen (exklusive des Lagerungsversuchs) diente, gemessen.

3.1.4.5 Haptoglobin

Hp wurde mit Hilfe des PhaseTM Range *assays*⁶ ebenfalls am ABX Pentra¹ bestimmt. Der Test basiert auf der Erhaltung der Peroxidaseaktivität des Hb in Gegenwart von Hp. Das Hb selbst besitzt eine eigene Peroxidaseaktivität, welche durch einen niedrigen pH-Wert gehemmt werden kann. Bei Hp-Hb-Komplexen wiederum wird die Peroxidasaktivität auch bei niedrigem pH nicht gehemmt. Steigt die Menge von Hp in der Probe, steigt auch die Anzahl der Hb-Hp-Komplexe und somit auch die Peroxidaseaktivität. Werden ein Chromogen und das Substrat zum Reagenz hinzugegeben, kommt es zu einem Farbwechsel, der durch die Peroxidase katalysiert wird. Im Anschluss wird die Absorption bei 600 nm photometrisch bestimmt. Die gemessene Absorption kann so zur

² Horiba ABX Pentra 400, Horiba ABX, Montpellier, France

³ High Linearity CRP (catalog CP7950), Randox Laboratories Ltd., Crumlin, United Kingdom

⁴ Life Diagnostics, P.O. Box 5205, West Chester, PA 19380, USA

⁵ BIOZOL Diagnostica, Obere Hauptstr.10b, D-85386 Eiching

⁶ PhaseTM Range Haptoglobin Testkit, Tridelata Development Ltd, Bry, Irland

Konzentrationsbestimmung des Hp herangezogen werden. Das Hp Level im Serum kann direkt bestimmt werden, wenn man es mit einer bekannten Hp Standardreihe vergleicht.

Obwohl der Test speziesspezifisch ist und der Hersteller Validierungsdaten angibt, wurde der Test in Vorversuchen (siehe 3.1.3) erneut laborintern validiert.

3.1.4.6 α 1-saures-Glykoprotein

AGP Konzentrationen wurden mittels *single radial immunodiffusion*⁷ ermittelt. Es wurden kommerziell erhältliche Agarosegelplatten verwendet, die mit anti-kaninem AGP Kaninchenserum imprägniert wurden. fünf μ l Serum wurden in kleine Vertiefungen (zehn Vertiefungen pro Platte, wobei zwei für die Standards genutzt werden) einer Agarplatte, die AGP Antiserum enthält, pipettiert. Im Anschluss wurde die Platte für 48h bei 37°C inkubiert. Die Probe diffundiert radial in die Agarosegelplatte und es entsteht eine Präzipitationsreaktion zwischen dem kaninen AGP und dem spezifischen Antiserum gegen kanines AGP, das im Gel enthalten ist. Die Größe des entstehenden sichtbaren Präzipitationsrings ist proportional zu der in der Probe enthaltenen AGP Menge. Durch Vergleich mit einem Standard (Lösung A: 1000 μ g/ml, Lösung B 250 μ g/ml) wurde die AGP Konzentration quantifiziert. Obwohl auch dieser Test speziesspezifisch ist und der Hersteller Validierungsdaten angibt, wurde er in Vorversuchen (siehe 3.1.3) zusätzlich laborintern validiert.

3.1.4.7 Hämatologie

Die hämatologischen Untersuchungen erfolgten durch Mitarbeiter/innen des Zentrallabors am ADVIA 2120⁸ Softwareversion 5.3.1.-MS. Das Gerät nutzt die Doppelwinkel-Laser-Streulicht-Technologie sowie Absorption (Peroxidaseaktivität) und Streuung (Volumen) einer Halogenlichtquelle.

Es wurden folgende Werte ermittelt:

- Leukozyten (Wbc)
- neutrophile Granulozyten
- Lymphozyten
- Monozyten
- eosinophile Granulozyten
- basophile Granulozyten

⁷ Canine alpha 1 Acid Glycoprotein SRID Assay Kit, (catalog P0201-1) Tridelta Development Ltd, Co. Kildare, Irland

⁸ ADVIA® 2120 Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland

- *large unstained cells*
- *red blood cells* (RBC)
- Hämoglobin
- Hämatokrit
- Erythrozytenindizes: *mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin , mean corpuscular/cellular hemoglobin concentration*
- *Red cell distribution width* (RDW)
- Thrombozyten inkl. *clumps*

Zu ausgewählten Zeitpunkten (t_{-1} , t_0 , t_3 , t_6) wurde durch die Autorin zusätzlich ein Blutaussstrich evaluiert. Dieser wurde nach Lufttrocknung nach May-Giemsa-Grünwald⁹ gefärbt und unter dem Mikroskop¹⁰ bei 1000-facher Vergrößerung im Ölimmersionsfeld ausgewertet. Für das Differentialblutbild wurden 100 Leukozyten ausgezählt. Es wurde auf Toxizitätsanzeichen und Aktivierung der Zellen geachtet. Die Erythrozytenmorphologie wurde evaluiert und die Thrombozytenzahl manuell abgeschätzt und folgendermaßen dargestellt: 0= als erniedrigt, 1= normal und 2= als erhöht. Ausgewertet wurde der Grad der Anisozytose, Polychromasie und Sphärozytose sowie das Vorhandensein von Howel-Jolly-Körperchen, Keratozyten, Exzentrozyten, Targetzellen, Echinozyten, Akanthozyten und Fragmentozyten. Die Angaben erfolgten semiquantitativ (0= fehlend, 1= (+), 2= +, 3= ++, 4= +++). Das Auftreten von lymphatischen Blasten wurde mit 0 als fehlend und mit 1 bzw. 2 als (+) bzw. + in der Fahne vorkommend bezeichnet.

3.1.4.8 Klinische Chemie bzw. Totalprotein und Albumin

Die klinisch-chemische Blutuntersuchung erfolgte durch Mitarbeiter/innen des Zentrallabors am ABXPentra¹.

Neben den Konzentrationen von Alb und TP, die zu jedem ZP bestimmt wurden, wurde zu den ZP t_{-1} , t_0 , t_3 , t_6 zusätzlich die Konzentrationen von Harnstoff, Kreatinin, Natrium, Chlorid, Kalium, ionisiertes Ca, Phosphor, Magnesium, Globulin, Glukose, Bilirubin, Triglyceride, Cholesterin, alkalische Phosphatase, Glutamatdehydrogenase, Alanin-Aminotransferase und Kreatinkinase gemessen.

⁹ Merck, Darmstadt, Deutschland

¹⁰ Olympus Lichtmikroskop, Olympus Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland

3.1.5 Katheterintervention

Die Arbeitsgruppe Kardiologie der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen unter der Leitung von Prof. Dr. Matthias Schneider führte die Katheterinterventionen durch. Alle Tiere erhielten am Vortag des Eingriffes sowie an den Folgetagen nach dem Eingriff Amoxicillin/Clavulansäure¹¹ (2 bis 3x tgl. 20mg/kg per os (p.o.)), sowie während des Eingriffes Ampicillin¹² (1x 50 mg/kg iv.).

Die Anästhesie sowie deren Überwachung waren bei Patienten mit PDA und PS identisch. Die Narkoseeinleitung erfolgte mit 0,5 mg/kg Diazepam¹³ und 0,5mg/kg Levomethadonhydrochlorid/Fenpipraminhydrochlorid¹⁴ iv.. Nach anschließender Intubation wurden die Hunde kontrolliert beatmet und erhielten ein Gemisch aus Druckluft, Sauerstoff (21%) und Isofluran (1,7% bis 2%). Die Narkoseüberwachung erfolgte mittels Kapnographie, EKG, Pulsplethysmographie, intraösophagealer Temperaturüberwachung und invasiv gemessenem arteriellem Blutdruck der Arteria dorsalis pedis. Weiterhin erhielten die Tiere eine Vollelektrolyt-Dauertropfinfusion¹⁵ (5 bis 10 ml/kg/h) sowie alle Tiere unter zwölf Monaten eine Glukosesubstitution (50ml 40%ige Glukoselösung¹⁶ in 500 ml Vollelektrolytlösung).

Eine venöse Schleuse, deren Größe je nach Anforderung des Eingriffes gewählt wurde, wurde perkutan in die rechte Vena femoralis gelegt. Über diese Schleuse erfolgte die Implantation des ACDO¹⁷ (Nitinolgeflecht Device) mittels endoffenem Katheter bei Hunden mit PDA bzw. eine Angiographie mit Hilfe eines Baermannkatheters und die anschließende Dilatation der Pulmonalklappenengstelle mittels eines Hochdruckballons bei Hunden mit PS.

Die Tiere mit PDA erhielten zur Angiographie zusätzlich einen arteriellen Zugang in die Arteria femoralis. Hierfür wurde mittels Seldinger Technik ein 4 F Einführbesteck verwendet. Über einen Pigtailkatheter wurde dann mit Hilfe eines automatischen Hochdruckinjektors 1,0 bis 1,2 ml/kg nichtionisches Röntgenkontrastmittel¹⁸ innerhalb einer Sekunde in die Aorta descendens injiziert.

¹¹ Synulox®, Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland

¹² Ampicillin 2g, AuroMedics Pharma LLC, New Jersey

¹³ Valium, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Whylen, Deutschland

¹⁴ Polamivet, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland

¹⁵ Sterofundin, Vollelektrolytlösung, B. Braun Melsungen AG, Deutschland

¹⁶ G40, Glukoselösung, B. Braun Melsungen AG, Deutschland

¹⁷ ACDO Infiniti Medical, Menlo Park, CA 94025, USA

¹⁸ Xenetix 300, Wirkstoff: Iobitridol 300 mgIod/ml, Guerbet GmbH, Sulzbach, Deutschland

Nach Beendigung des Eingriffs wurde ein Druckverband über der Punktionsstelle angelegt und bis zum Folgetag belassen.

3.1.6 Komplikationen

In der Auswertung wurden Hunde mit und ohne Komplikationen unterschieden. Als Komplikation wurden Vorfälle betrachtet, die während dem Kathetereingriff eine APR auslösen könnten. Hunde, die nach Beurteilung des Punktionsstellenscores sowie der Beurteilung des Allgemeinbefindens und dem Vorliegen weiterer Befunde an einem Tag einen Score von ≥ 10 oder über den gesamten Zeitraum einen Score von ≥ 15 erhielten, wurden ebenfalls als Hunde mit Komplikation gewertet.

3.1.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung geschah in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Biomathematik unter der Leitung von Herrn Akad. Dir. Dr. rer. nat. Klaus Failing. Zur Verwendung kam eine BMDP Software¹⁹. Die grafischen Darstellungen wurden auf einem Personalcomputer mit dem Programm GraphPad Prism²⁰ erstellt.

Die Analyse erfolgte als dreifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen bezüglich der Zeit ausgeführt. Für Variablen, die zu allen Studienzeitpunkten, und Variablen, die zu ausgewählten ZP gemessen wurden, fand eine getrennte Betrachtung statt. Einige Daten wurden logarithmiert.

Die Statistik der Vorversuche (siehe 3.1.3) erfolgte selbstständig am Personalcomputer.

Bei der Benennung von Signifikanzen wurde grundsätzlich der jeweils berechnete p-Wert angegeben. Die Signifikanzlevel gelten wie folgt: $p \leq 0,001$: hochsignifikant, $p \leq 0,01$: signifikant, $p \leq 0,05$: schwach signifikant und $p > 0,05$: nicht signifikant.

¹⁹ BMDP Statistical Software 8.1., Statistical Solutions Ltd., Cork, Ireland

²⁰ GraphPad Prism 5, San Diego, Californien, USA

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Patienten

Das Patientengut setzte sich aus zehn Hunden mit PDA und zehn Hunden mit PS zusammen.

3.2.1.1. Rassen

Die Rassenverteilung ergab sich wie folgt:

Tabelle 6: Rassespektrum von Hunden mit PDA (Gruppe 1) und PS (Gruppe 2)

Gruppe 1	Rasse	Anzahl	Gruppe 2	Rasse	Anzahl
	Mischling	3		Bayerischer Gebirgsschweißhund	2
	Weißer Schäferhund	2		Mischling	2
	Golden Retriever	2		Berner Sennenhund	1
	Wolfspitz	1		Deutscher Schäferhund	1
	Irish Setter	1		Dobermann	1
	Deutscher Schäferhund	1		Französische Bulldogge	1
				Rhodesian Rhidgeback	1
				Entlebucher Sennenhund	1

3.2.1.2 Alter

Das Alter lag zum ZP des Eingriffs in Gruppe 1 (PDA) im Median bei 15,5 Monaten (*range* 4 bis 84 Monate) und in Gruppe 2 (PS) im Median bei 12,5 Monaten (*range* 6 bis 57 Monate)

3.2.1.3 Geschlecht

Die Hunde mit PDA wiesen folgende Geschlechterverteilung auf: zwei männlich-intakte und vier weiblich-intakte Hunde sowie vier weiblich-kastrierte Tiere. Bei den Hunden mit PS handelte es sich um sieben männlich-intakte und zwei weiblich-intakte Hunde sowie ein weiblich-kastriertes Tier.

3.2.1.4 Gewicht

Die Hunde der Gruppe 1 (PDA) wiesen einen Gewichtsmedian von 20,8 kg (*range* 14,0 bis 30,5 kg) auf, während der Gewichtsmedian der Gruppe 2 (PS) bei 17,5 kg (*range* 11,0–35,8 kg) lag.

3.2.1.5 Anamnese, Vorbehandlung

Vorberichtlich zeigten fünf Tiere mit PDA und drei Tiere mit PS für die Besitzer keine Symptome der Grunderkrankung. Bei den Tieren, die klinische Symptome aufwiesen, trat Leistungsinsuffizienz bei 4/10 Hunden mit PDA und 5/10 Hunden mit PS auf. Husten war bei 2/10 PDA und 1/10 PS Hunden zu

verzeichnen. Ein Hund mit PDA zeigte Dyspnoe, welche begleitet war von röntgenologischen und echokardiographischen Anzeichen für eine Dekompensation seiner Grunderkrankung. Ein weiterer Hund mit PDA zeigte vorberichtlich eine Zyanose. Jeweils 1/10 Tieren mit PDA bzw. PS war inappetent und 2/10 Hunden mit PDA und 1/10 Hunden mit PS zeigten einen Gewichtsverlust. 3/10 Tieren mit PS litten unter Synkopen.

Abgesehen von den beschriebenen Symptomen der Grunderkrankung hatte ein Hund mit PS drei Wochen vor Vorstellung eine Zystitis sowie eine chronische Inkontinenz. Ein Hund mit PDA litt drei Wochen vor Erstvorstellung und ein weiterer zum Vorstellungszeitpunkt unter einer Konjunktivitis. Eine Hündin mit PDA hatte eine bereits diagnostizierte Hüftdysplasie und war drei Wochen vor der Erstvorstellung zu dieser Studie läufig, eine weitere Hündin mit PS war ebenfalls eine Woche vor Versuchsbeginn läufig und zeigte zusätzlich Symptome eines Brachycephalensyndroms. Ein Tier mit PS lahmt eine Woche vor der Erstvorstellung.

Die Hunde mit Konjunktivitis wurden vom Haustierarzt mit homöopathischen Komplexmittel- bzw. Ofloxacin-haltigen Augentropfen behandelt. Bei dem Hund mit Inkontinenz wurde im Laufe des stationären Aufenthalts Caniphedrin p.o. eingesetzt und der Hund mit dekompensiertem PDA erhielt Medikamente zur Behandlung der Folgeerscheinungen des PDAs (siehe 3.2.2 und 3.2.3.2). Ansonsten wurden die Tiere lediglich mit Medikamenten zur Therapie der Grunderkrankung vom überweisenden Tierarzt therapiert. Diese waren wie folgt:

Probanden mit PS:

- Atenolol bei 10 /10 Hunden

Probanden mit PDA:

- ACE-Hemmer bei 7/10 Hunden
- Pimobendan bei 3/10 Hunden
- Furosemid bei 7/10 Hunden

3.2.1.6 Klinische Untersuchung bei Erstvorstellung (außer Vitalparameter)

In der klinischen Untersuchung fiel bei allen Hunden beider Gruppen auskultatorisch ein Herzgeräusch auf. Bei jeweils 1/10 Hunden mit PDA bzw. PS ließ sich Husten bei Druck auf die Trachea auslösen. Zwei Rüden mit PS hatten einen Präputialkatarrh. Bei einem Tier mit PS zeigte sich ein angespanntes Abdomen und ein Hund mit PDA zeigte gerötete Konjunktiven. Jeweils ein Tier mit PDA litt unter einer Lahmheit sowie einer geringstgradigen generalisierten Lymphadenomegalie. Ein Hund mit PDA zeigte klinisch Anzeichen einer dekompensierten Herzerkrankung mit

Folgeerscheinungen: Dyspnoe mit auskultatorisch rasselnden Atemgeräuschen, Arrhythmie mit Pulsdefizit sowie einen verminderten Ernährungszustand.

3.2.1.7 Sonstiges

Neben den hämatologischen und klinisch-chemischen Untersuchungen sowie der Evaluierung der Entzündungsparameter wurde bei allen Probanden vor dem Kathetereingriff eine Röntgenuntersuchung des Thoraxs in zwei Ebenen (latero-lateraler und dorso-ventraler Strahlengang), ein EKG, eine Blutdruckmessung und eine Echokardiographie durchgeführt. Die Hunde zeigten hier neben unspezifischen bzw. altersbedingten Veränderungen unterschiedlich ausgeprägte, für ihre Grunderkrankung typische Veränderungen. 4/10 Hunden mit PDA zeigten Anzeichen der Dekompensation, einer davon, wie oben bereits ausgeführt, mit Folgeerscheinungen.

3.2.2 Katheterintervention

Während des Kathetereingriffs traten keine schwerwiegenden Komplikationen (Blutungen, finale Rhythmusstörungen etc.) auf. Folgende kleinere Komplikationen traten auf:

PDA:

- 1/10: Herzrhythmusstörungen: Bradykardie bei Narkoseeinleitung (behandlungswürdig mit Atropin), ventrikuläre Tachykardie und Kammerflimmern (behandlungswürdig mit Lidocain und Defibrillation), Bigeminus, danach bekanntes Vorhofflimmern (Konversionsversuch mit Defibrillation erfolglos, daher Behandlung mit Magnesium, Diltiazem); Blutdruckabfall; aufgrund der Dekompensation Behandlung mit Furosemid- und Dobutamin-Dauertropfinfusion während des Eingriffs nötig
- 2/10: allergische Reaktion auf Amoxicillin-Clavulansäure mit ödematöser Schwellung des Kopfes, die eine Therapie mit Dimetinden nötig machte

PS:

- 2/10: allergische Reaktion auf Amoxicillin-Clavulansäure mit ödematöser Schwellung des Kopfes, die eine Therapie mit Dimetinden nötig machte

Um eine statistische Auswertung bezüglich der Fragestellung, ob Komplikationen den Verlauf der APP beeinflussen, zu ermöglichen, wurden Komplikationen innerhalb des Katheters und postoperative Komplikationen gemeinsam betrachtet.

Da jeweils vier Hunde mit PDA bzw. PS postoperative Komplikationen aufwiesen, gingen aufgrund von Überschneidungen insgesamt fünf Hunde mit PDA und Komplikationen sowie sechs Hunde mit PS und Komplikationen in die Untersuchung ein.

3.2.3 Ergebnisse der klinischen Untersuchung

3.2.3.1 Allgemeine klinische Untersuchung

In dieser Arbeit wurde, um die Streuung der Einzelwerte anzuzeigen, in den Graphiken der Median dargestellt. Zum besseren Vergleich der Einzelwerte wird dann im Text zusätzlich der Mittelwert (*mean*) angegeben.

3.2.3.1.1 Puls

Die Bestimmung der Pulsfrequenz ergab keine statistisch signifikanten Veränderungen zwischen den Gruppen oder bei Tieren mit und ohne Komplikationen. Es zeigt sich allerdings eine hochsignifikante ($p < 0,0001$) Veränderung der Pulsfrequenz im Verlauf der Zeit. Zum ZP t_{-1} zeigten sich im Vergleich zu den anderen ZP, vor allem zum narkoseassoziierten ZP t_0 , deutlich höhere Werte. Die Medianwerte der Pulsfrequenzen der Tiere lagen zu allen ZP innerhalb des Referenzbereichs (60 bis 120 Schläge/Min), allerdings zeigten einzelne Patienten zu verschiedenen Studienzeitpunkten eine Tachykardie.

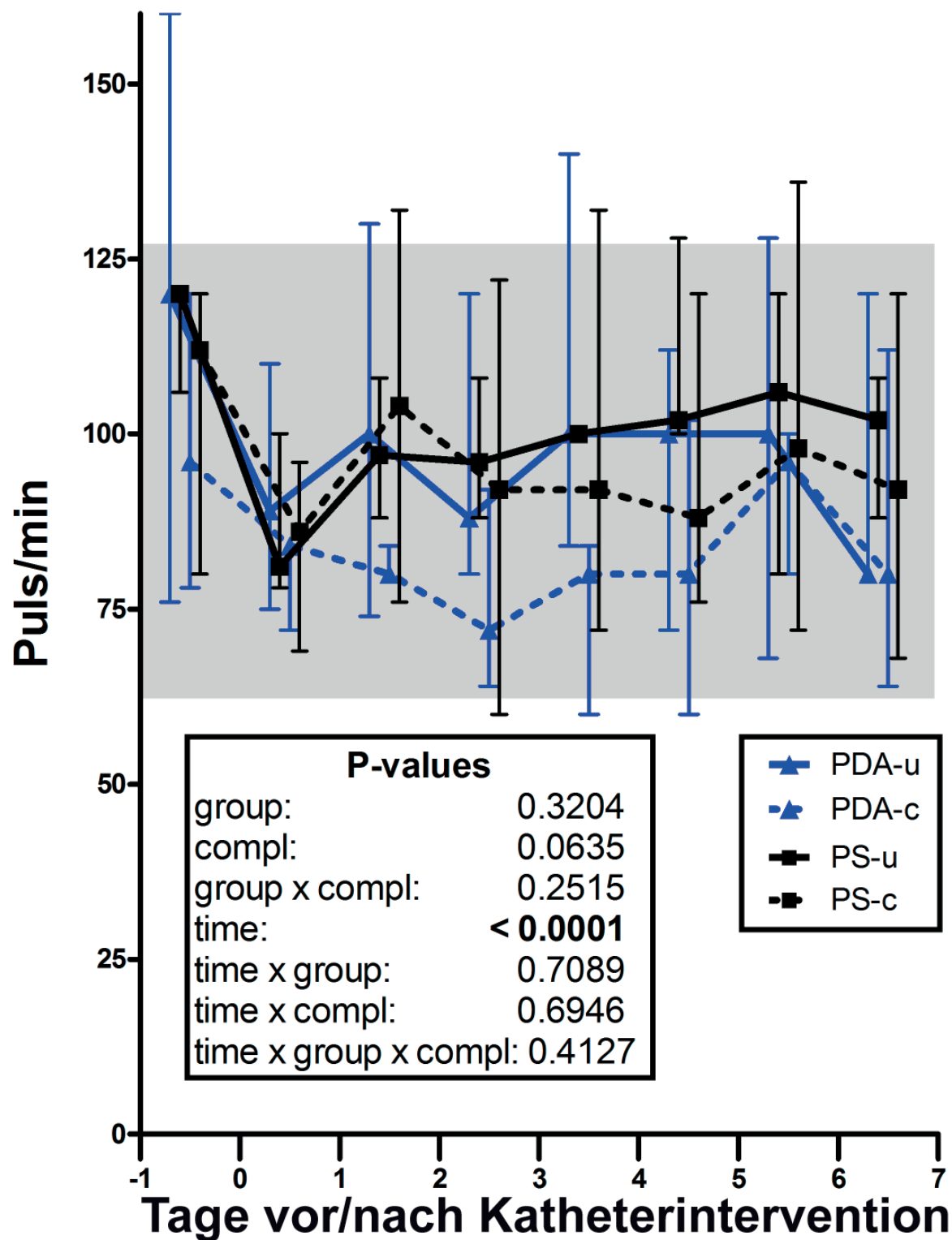


Abbildung 1: Entwicklung der Pulsfrequenz über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.3.1.2 Atmung

Die Atemfrequenz der Hunde bewegte sich mit wenigen Ausnahmen innerhalb des Referenzbereichs (12 bis 40 Atemzüge/min), einige Tiere zeigten intermittierendes Hecheln, so dass keine Atemfrequenz bestimmt werden konnte. Innerhalb und zwischen den Gruppen konnten keine signifikanten Korrelationen festgestellt werden. Im Verlauf der Zeit veränderte sich die Atemfrequenz hochsignifikant ($p < 0,0001$).

3.2.3.1.3 Körperinnentemperatur

Es ergab sich ein hochsignifikanter ($p < 0,0001$) Abfall der Körperinnentemperatur im Verlauf der Zeit mit narkoseassoziiertem Minimum für alle Gruppen zum ZP t_0 . Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen oder bei Tieren mit oder ohne Komplikationen zu verzeichnen. Signifikante Unterschiede ($p = 0,0231$ bzw. $p = 0,0002$) zeigten sich weiterhin in Bezug auf Zeit und Gruppe bzw. Zeit und Komplikationen. Bei gemeinsamer Betrachtung von Zeit, Gruppe und Komplikationen war ebenfalls ein signifikanter Unterschied zu detektieren ($p = 0,0024$).

Bis auf den Narkosezeitpunkt t_0 lag die Temperatur im Median immer im Referenzbereich (37,5 bis 39,2°C). Zum ZP t_0 bewegte sich die Temperatur im Median bei allen Gruppen unterhalb des Normwertes. PS-u (unkomplizierter Verlauf Pulmonalstenose) hatten im Median deutlich niedrigere Körperinnentemperaturen als die anderen Gruppen.

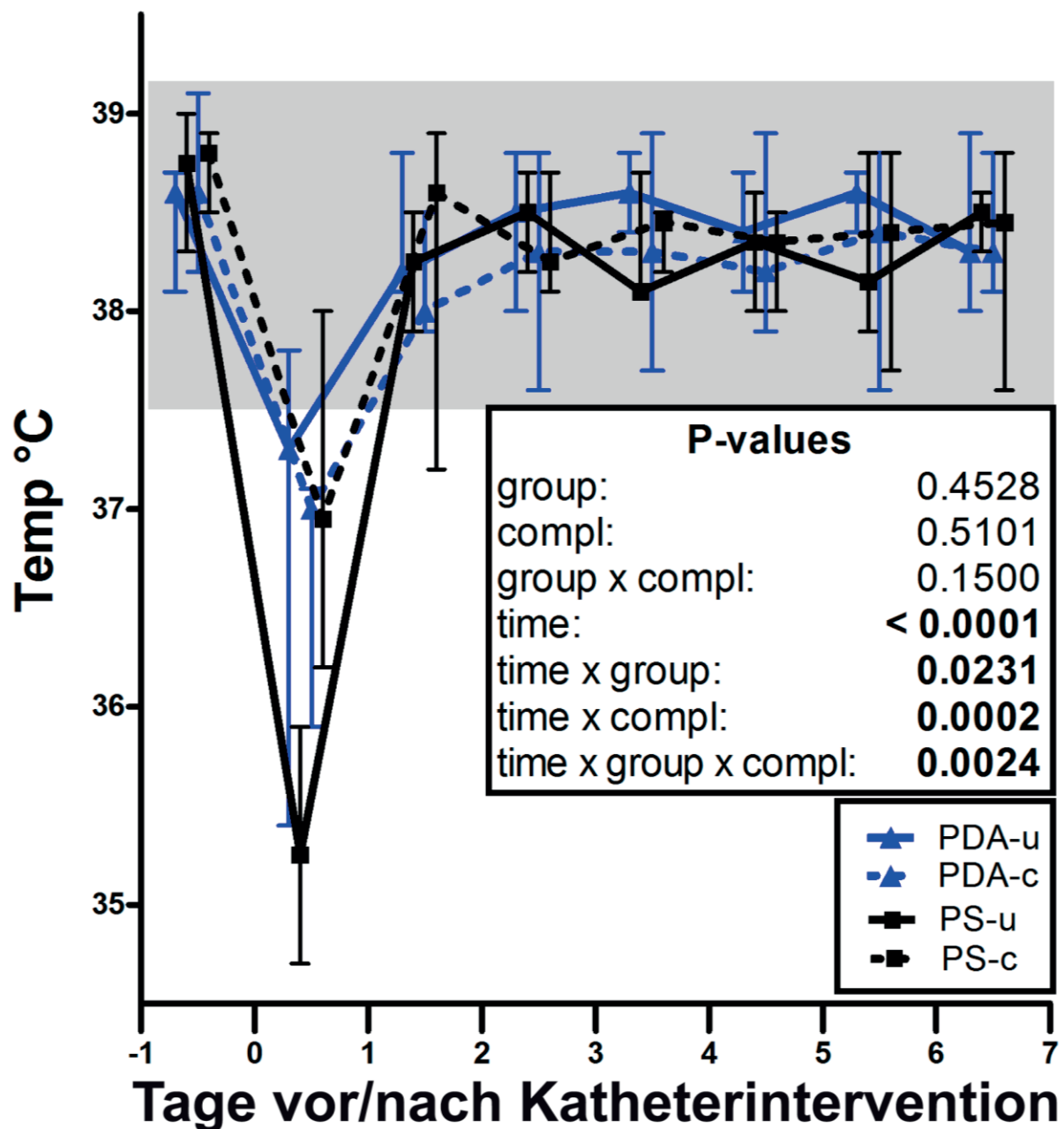


Abbildung. 2: Entwicklung der Körperinnentemperatur über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.3.2 Punktionsstelle und sonstiger klinischer Verlauf

Laut Definition wurden Hunde, die nach Beurteilung des Punktionsstellenscores sowie der Beurteilung des Allgemeinbefindens und dem Vorliegen weiterer Befunde an einem Tag einen *score* von ≥ 10 oder über dem gesamten Zeitraum einen Score von ≥ 15 erhielten, als Hunde mit Komplikation gewertet. Jeweils vier Hunde mit PDA bzw. PS wiesen postoperative Komplikationen auf.

Drei Hunde mit PDA erreichten die Überschreitung des Gesamtscores ausschließlich aufgrund von Schwellung, Dolenz und Veränderung von Konsistenz, Fläche und Wärme der Punktionsstelle. Sie erreichten 16, 17 sowie 19 Punkte. Einer der Hunde erreichte zusätzlich am dritten Tag zehn Punkte (siehe Abb. 3). Ein Hund mit PDA, der auch gleichzeitig an einer Dekompensation seiner Grunderkrankung inkl. Vorhofflimmern und intraoperativen Komplikationen litt, erreichte 31 Punkte und entwickelte postoperativ vorübergehende Blasenentleerungsstörungen, eine Hämaturie sowie gastrointestinale Symptome. Der Hund zeigte ein Hämatom im Bereich der Punktionsstelle. Aufgrund seiner Dekompensation erhielt der Hund zusätzlich zu den weiter oben aufgeführten Medikamenten therapeutisch Lidocain, Dobutamin, Diltiazem, Atropin, Kalium-Magnesium-Kupfer-Zink-Mangan-Lösung, Acepromazin, Prontovetgel, Methyldigoxin, Kaliumchlorid, Carnitin und Pantoprazol.

Ein Hund mit PS erhielt insgesamt 18 Punkte. Dieser Hund zeigte neben Veränderungen der Punktionsstelle auch Husten. Eine parasitologische Kotuntersuchung mittels Trichterauswanderverfahren auf Lungenwürmer verlief negativ. Weiterhin zeigte der Hund eine vorberichtlich seit Kastration bestehende Inkontinenz. Daher erfolgte im Rahmen des stationären Aufenthaltes eine gynäkologische Untersuchung in der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit tierärztlicher Ambulanz der Justus-Liebig-Universität Gießen. Im Anschluss daran erhielt der Hund Caniphedrin.

Ein weiterer Proband mit PS erreichte 24 Punkte. Neben postoperativ entwickelter Diarrhoe, litt der Hund an einem durch den Druckverband entstandenen Hodenhämatom.

Der dritte bzw. vierte Hund mit PS hatte einen Punktescore von 17 bzw. 15. Dieser wurde vor allem aufgrund einer Schwellung oberhalb bzw. eines Hämatoms unterhalb der Punktionsstelle erreicht.



Abbildung 3: Komplikationen im Bereich der Punktionsstelle: Hämatom, Wundschwellung.

3.2.4 Labordiagnostische Parameter

3.2.4.1 Vorversuche

3.2.4.1.1 C-reaktives Protein

3.2.4.1.1.1 Lagerungsversuch

Tabelle 7: Übersicht über die Ergebnisse des Lagerungsversuchs des CRP. Angegeben sind relative CRP Konzentrationen in Prozent, in Bezug auf den höchsten Anfangswert (Tag 1, +7°C, Wert 1) bei verschiedenen Lagerungstemperaturen (+7°C, -20°C und -80°C). Der *mean* ist der Mittelwert der beiden Einzelwerte. Gemessen wurde die Entwicklung der CRP Konzentration über einen Zeitraum von 142 Tagen. Zu ausgewählten Zeitpunkten (Tag der Lagerung) wurde die CRP Konzentration ermittelt. Grau markiert sind die CRP Werte, die eine größere Abweichung als 2 Standardabweichungen der Messung aufweisen ($2 \cdot SD / \text{mean} \cdot 100$ = erlaubte Abweichung in %; hier: 11.4% in Bezug auf den *mean* an Tag 1).

Tag	Relative CRP Konzentration in % vom mean an Tag 1, +7°C								
	Lagerungstemperatur								
	+7°C			-20°C			-80°C		
	Wert 1	Wert 2	Mean	Wert 1	Wert 2	Mean	Wert 1	Wert 2	Mean
1	107,45	92,531	100	99,247	105,96	102,61	100	106,71	103,35
5	98,506	101,48	100	111,93	114,91	113,43	111,18	115,66	113,43
8	50,741	52,987	51,859	67,160	61,186	64,173	82,086	70,889	76,488
15	108,95	96,260	102,61	105,96	107,45	106,71	108,19	107,45	107,83
22	128,34	134,32	131,33	141,03	147,01	144,02	137,30	141,03	139,16
29	106,71	106,71	106,71	111,18	110,44	110,82	114,17	115,66	114,91
57	110,44	111,18	110,82	111,93	108,95	110,44	112,67	105,96	109,32
85	73,877	79,099	76,488	75,370	75,370	75,370	80,593	77,605	79,099
114	106,71	107,45	107,08	123,12	115,66	119,39	108,95	114,91	111,93
142	88,802	82,828	85,815	96,260	99,247	97,754	101,48	96,260	98,871

3.2.4.1.1.2 Referenzwerte

Die Daten lagen nicht normalverteilt vor. Das berechnete Referenzintervall betrug 0,1 bis 26,5 mg/l.

3.2.4.1.2 Haptoglobin

3.2.4.1.2.1 Wiederholbarkeit/Präzision

Within Run

Der *intra-assay* CV der HP Konzentrationen lag bei 3,03% (niedrige Konzentrationen), 9,03% (mittlere Konzentrationen) bzw. 1,31% (hohe Konzentrationen).

Between Run

Der CV des *between runs* betrug bei hohen Konzentrationen 4,30%, bei mittleren bzw. niedrigen Werten lag er bei 6,57 % bzw. 13.03%.

3.2.4.1.2.2 Referenzwerte

Die nicht normalverteilten Daten ergeben einen Referenzbereich zwischen 0,1 und 2,3 mg/ml.

3.2.4.1.2.3 Linearität

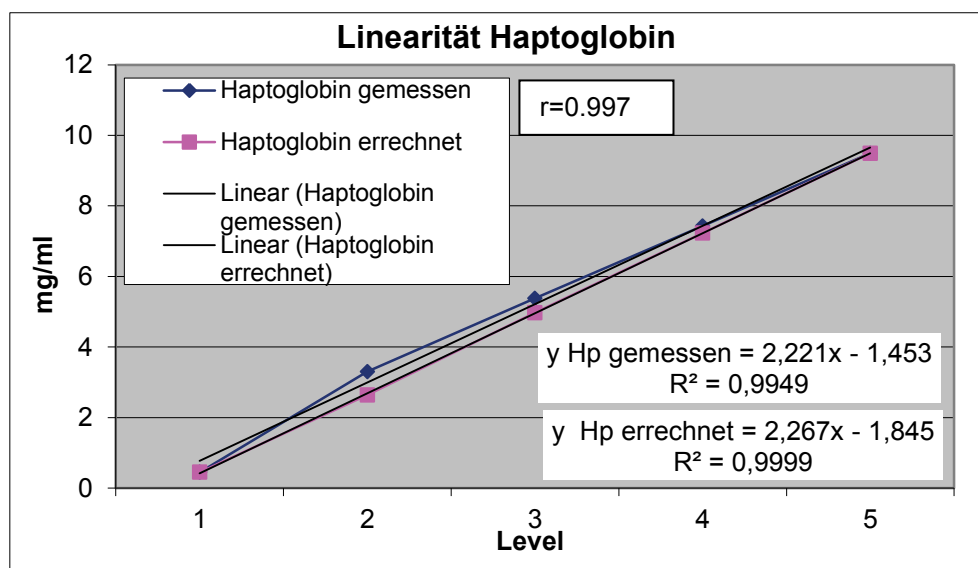


Abbildung 4: Linearität von Haptoglobin. Angegeben ist die ermittelte Haptoglobinkonzentration in mg/ml über den verschiedenen Leveln. Als Level sind verschiedene Verdünnungen einer Serumprobe mit mit physiologischer Hp Konzentration (A) mit einer Serumprobe mit hoher Hp Konzentration (B) mit einer Serumprobe bezeichnet. Level 1: 100% A; Level 2: 75% A, 25% B; Level 3: 50% A, 50 %B; Level 4: 25% A, 75%B; Level 5: 100% B.

3.2.4.1.3 α 1-saures-Glykoprotein

3.2.4.1.3.1 Wiederholbarkeit/Präzision

Within Run

Das AGP zeigte einen CV von 18,86% im niedrigen Bereich. Bei mittleren und hohen Konzentrationen lag er mit 5,13% bzw. 4,55% deutlich niedriger.

Between Run

Im *between run* wurde ein CV bei niedrigen Konzentrationen von 24,34% erreicht. Bei mittleren bzw. hohen AGP Werten betrug er 3,30% bzw. 5,30%.

3.2.4.1.3.2 Referenzwerte

Für die AGP Konzentrationen errechnet sich aus den nicht normalverteilten Werten ein Referenzbereich von 131,0 bis 798,0 $\mu\text{g/ml}$.

3.2.4.2 Akute-Phase-Proteine

3.2.4.2.1 C-reaktives Protein

CRP zeigte eine hochsignifikante ($p < 0,0001$) Veränderung der Konzentration im Verlauf der Zeit. Bei allen Probanden lag die CRP Konzentration zum ZP der Erstvorstellung innerhalb des Referenzbereichs (0,1 bis 26,5 mg/l). Die Katheterintervention wurde von einem schnellen Anstieg mit *peak*-Konzentrationen an Tag 1 begleitet. Bei allen Gruppen außer den Hunden mit PS-c (komplizierter Verlauf Pulmonalstenose) waren die medianen CRP Konzentrationen an Tag 1 und 2 oberhalb des Referenzbereichs. Hunde mit PDA ohne Komplikationen zeigten an Tag 1 im Vergleich zu den Ausgangswerten zum ZP t_{-1} im Mittel einen 16,8-fachen CRP Anstieg. Bei den Probanden mit kompliziertem PDA-Verlauf ergab sich ein 11,5-facher und bei den Tieren mit unkomplizierter PS bzw. komplizierter PS ein 21,7- bzw. 7,0-facher Anstieg der CRP Konzentration. Sowohl in der Gruppe der PDA-u (unkomplizierter Verlauf persistierender Ductus arteriosus Botalli) als auch der PDA-c (komplizierter Verlauf persistierender Ductus arteriosus Botalli) gibt es jeweils einen Hund mit abweichend hohen CRP Konzentrationen, weshalb sich zum ZP t_1 eine Standardabweichung von 34,5 mg/l bzw. 41,9 mg/l ergibt.

Im Laufe der Zeit sinkt die CRP Konzentration wieder ab und am Ende des Studienzeitraums befinden sich alle CRP Werte innerhalb des Referenzbereichs.

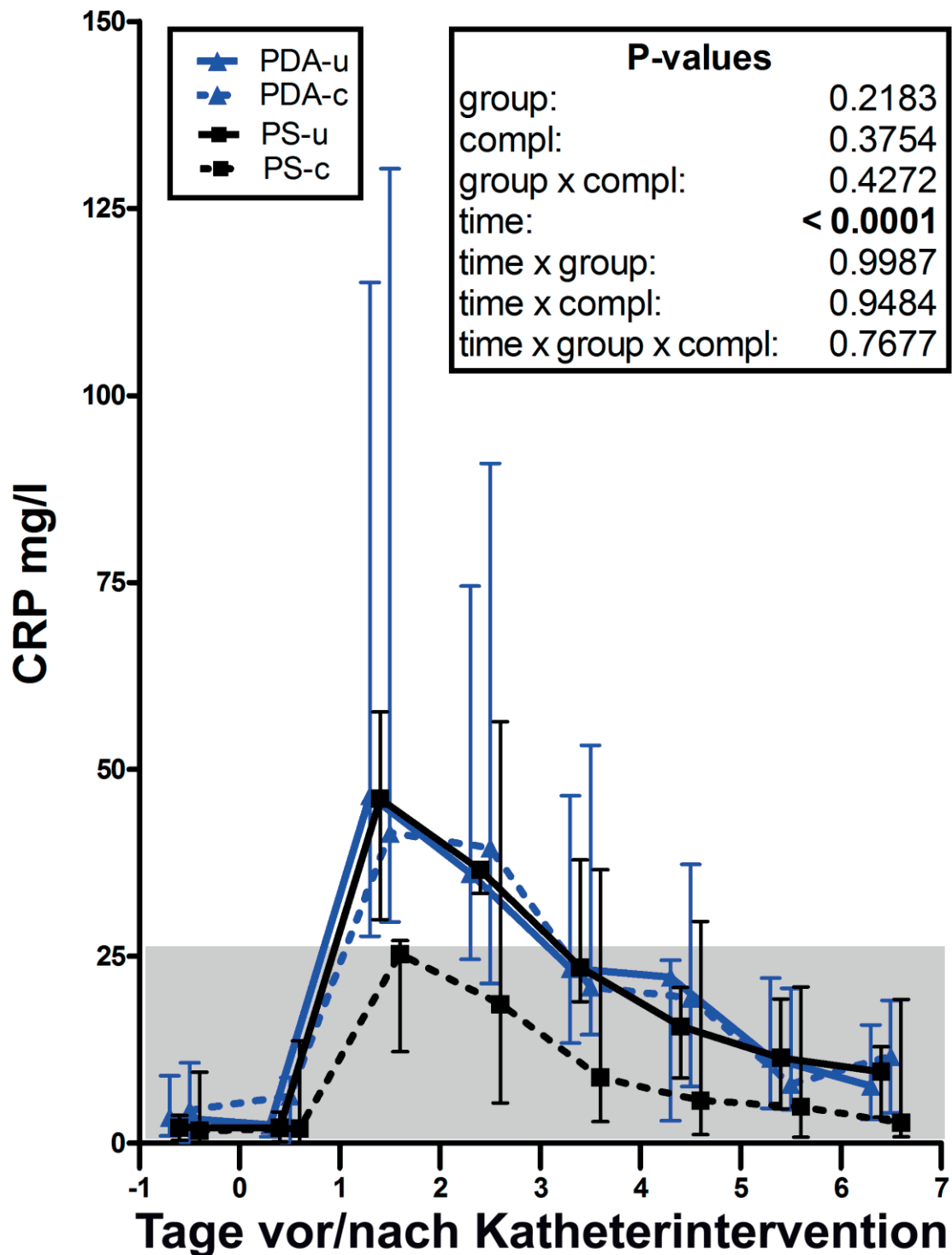


Abbildung 5: Entwicklung der CRP Konzentrationen über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.2.2 Haptoglobin

Für Haptoglobin ergeben sich hochsignifikante Veränderungen ($p < 0,0001$) in Bezug auf den Zeitverlauf sowie bei Betrachtung von Zeitverlauf und Gruppe. Bei gemeinsamer Betrachtung von Zeitverlauf, Gruppe und Komplikationen ergibt sich ebenfalls eine signifikante Veränderung ($p = 0,0127$).

Die Medianwerte aller Gruppen befinden sich bis auf eine Ausnahme (PDA-c zum ZP t_3) während des Untersuchungszeitraums immer innerhalb des Referenzbereichs (0,1 und 2,3 mg/ml). Allerdings zeigte sich ein Anstieg der Hp Konzentrationen im Laufe der Zeit. Bei den Probanden mit PDA-u kommt es an Tag 2 zu *peak*-Werten, die im weiteren Verlauf nur langsam und ggr. abfallen und am Ende des Studienzeitraums nicht die Ausgangskonzentrationen erreichen. An Tag 2 zeigt sich im *mean* ein im Vergleich zum Vorstellungszeitpunkt t_1 7,3-facher Anstieg der Hp Konzentration. Hunde mit PDA-c zeigen *peak*-Konzentrationen an Tag 3 und es kommt bis zum Ende des Studienzeitraums zu einem deutlichen Abfall der Hp Konzentrationen, die jedoch nicht die Ausgangskonzentrationen erreichen. Die Hp Konzentrationen an Tag 3 (t_3) ergeben im *mean* einen 2,8-fachen Anstieg verglichen zum ZPt t_1 . Die Tiere mit PS-c zeigen bis zum ZP t_5 einen kontinuierlichen Anstieg und zum ZP t_6 annähernd konstante mediane Hp Konzentrationen. Die *mean* Konzentrationen weisen zum ZP t_5 einen 2,5-fachen Anstieg verglichen mit dem Ausgangswert auf. Die Patienten mit unkomplizierter PS wiesen im Vergleich zu den anderen Gruppen eine höhere mediane Hp Ausgangskonzentration auf, die bis zum ZP t_1 absinkt und anschließend bis zum ZP t_3 wieder ansteigt, allerdings nicht die Höhe des Ausgangswerts erreicht. Bis zum Entlassungszeitpunkt fallen die Konzentrationswerte erneut ab. Bezogen auf den Mittelwert weisen die Tiere allerdings zum ZP t_3 den höchsten Hp Wert auf, der bezogen auf den Ausgangswert um das 1,4-fache angestiegen ist.

Ein Proband mit PDA-c zeigt schon zum ZP der Erstvorstellung t_1 deutlich erhöhte Haptoglobinkonzentrationen, welche im Laufe der Zeit noch ansteigen, zum ZP t_4 das Maximum erreichen und wieder abfallen, ohne in den Referenzbereich zu gelangen. Die SD zum ZP t_4 in der Gruppe der PDA-c beträgt 4,19 mg/ml.

Auch in der Gruppe der Hunde mit unkomplizierter PS befindet sich ein Hund mit abweichend hohen Hp Konzentrationswerten. Das Tier zeigt nach der Katheterintervention einen starken Anstieg der Hp Konzentration mit *peak*-Werten zum ZP t_3 . Der Referenzbereich wird zwischen ZP t_1 und ZP t_5 überschritten. Die SD in der Gruppe der PS-u zum ZP t_3 beträgt 1,65 mg/ml.

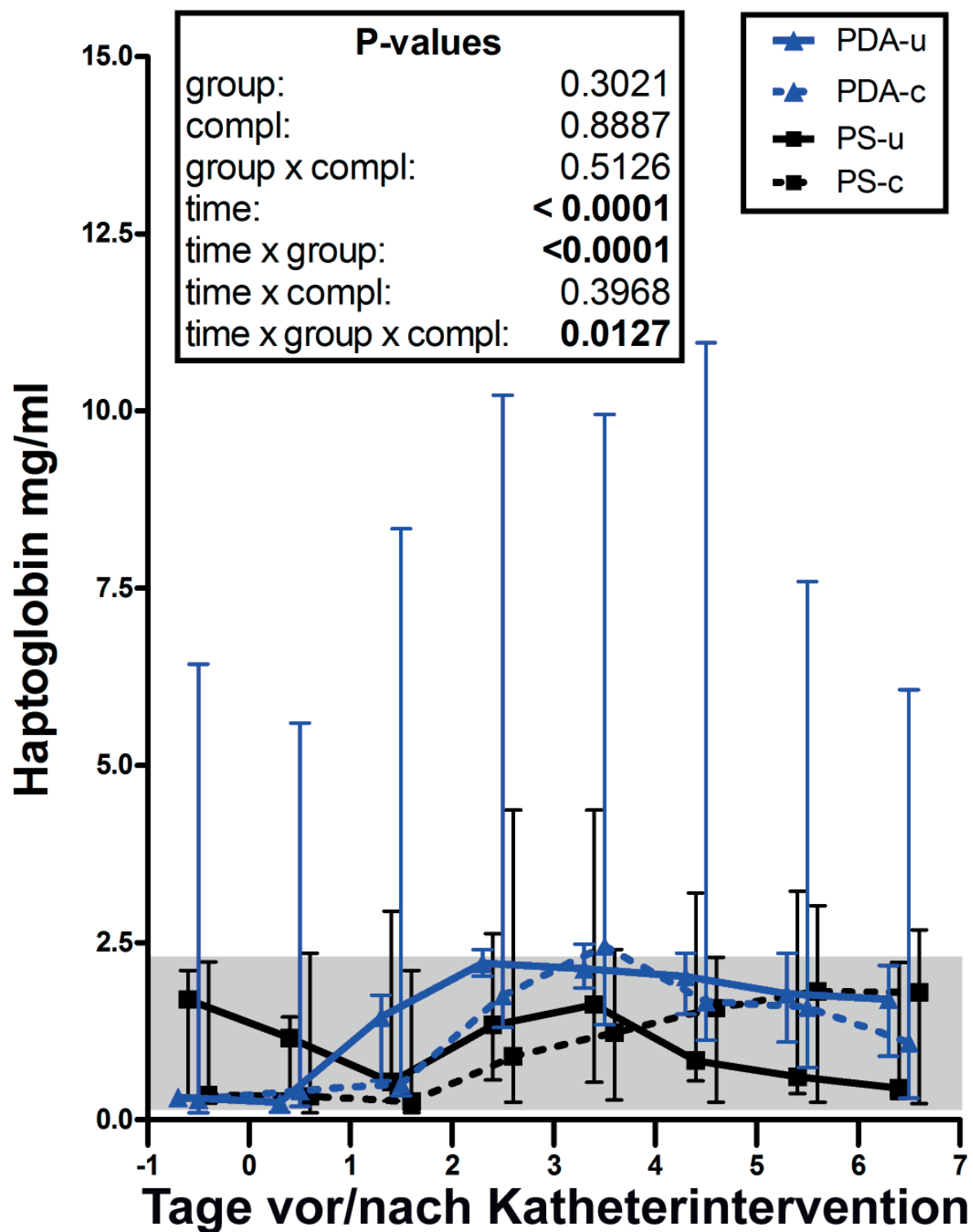


Abbildung 6: Entwicklung der Haptoglobin Konzentrationen über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.2.3 α 1-saures-Glykoprotein

Auch die AGP Konzentration weist hochsignifikante Veränderungen ($p < 0,0001$) im Zeitverlauf auf. Zeitverlauf und Gruppe sowie Zeitverlauf und Komplikationen gemeinsam ausgewertet erbrachten ebenfalls signifikante Veränderungen ($p = 0,0281$ bzw. $p = 0,0077$).

Die Medianwerte aller Gruppen befinden sich zu allen Zeitpunkten innerhalb des Referenzbereichs (131,0 bis 798,0 $\mu\text{g/ml}$). Bei allen Gruppen kommt es nach dem Kathetereingriff zu einem Anstieg der Medianwerte mit *peak*-Konzentrationen zwischen Tag 2 und 3. Die Medianwerte fallen bis zum Entlassungszeitpunkt t_6 wieder ab, erreichen aber nicht die Ausgangskonzentrationen. Bei der Gruppe der PS-u kommt es am letzten Tag erneut zu einem geringstgradigen Anstieg. In der Gruppe der PDA-u kommt es zum höchsten medianen *peak*-Wert und es zeigt sich im Mittel an Tag 2 ein 2,36-facher Anstieg im Vergleich zur Ausgangskonzentration. Die niedrigste mediane *peak*-Konzentration zeigen die Hunde mit PS-u. Sie weisen an Tag 2 im Mittel einen 1,61-fachen Anstieg der AGP Konzentration im Vergleich zur Konzentration zum Studienbeginn auf.

Je ein einzelnes Tier mit kompliziertem und unkompliziertem PDA zeigten zwischen ZP t_1 und t_3 AGP Konzentrationen oberhalb des Referenzbereichs. Ein Hund mit PS-c wies schon zum Vorstellungszeitraum AGP Konzentrationen oberhalb des Referenzbereichs auf und zeigt nach einem initialen Abfall der Werte an Tag 3 die höchste *peak*-Konzentration. Die Konzentrationen fallen im Verlauf zwar wieder deutlich ab, bleiben aber bis zum Ende des Studienzeitraums knapp oberhalb des Referenzbereichs. Die SD zum ZP t_3 in der Gruppe der PS-c beträgt 373,0 $\mu\text{g/ml}$ AGP. Diese starke Schwankung der Einzelwerte wird auch anhand der Medianwerte ersichtlich, die in Abbildung 6 dargestellt sind.

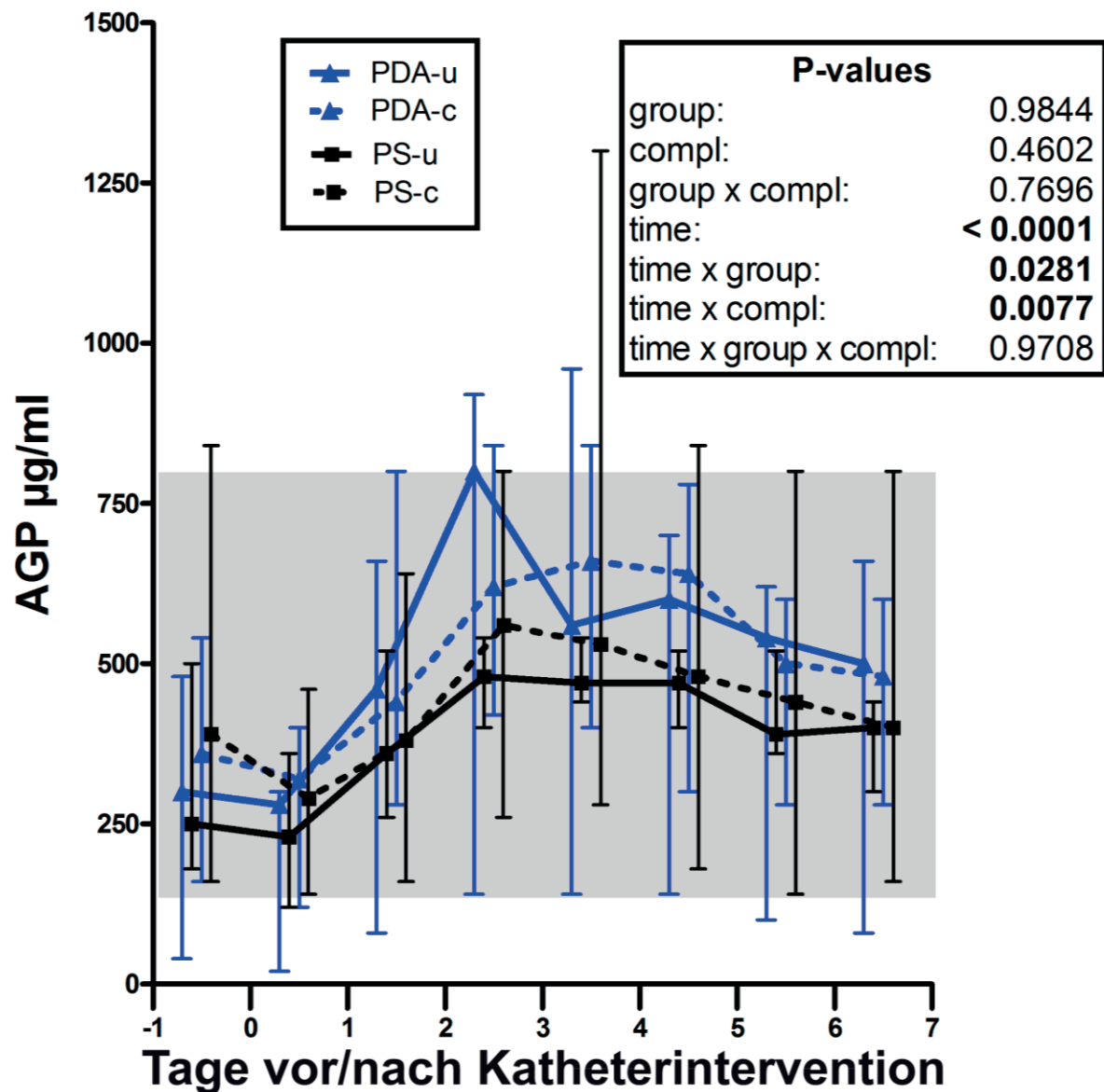


Abbildung 7: Entwicklung der AGP Konzentrationen über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.3 Hämatologie

3.2.4.3.1 Leukozyten (Wbc)

Auch bei der Entwicklung der Leukozytenzahl zeigt sich über die Zeit eine hochsignifikante Veränderung ($p < 0,0001$) ohne Gruppenunterschied. Alle untersuchten Gruppen zeigen einen ähnlichen Verlauf. Während der Katheterintervention kommt es zu einem deutlichen Abfall der Leukozytenzahl. Die Medianwerte der Tiere mit PS-c und PS-u blieben im Referenzbereich ($5,48$ bis $13,74 \times 10^9/l$), die Leukozytenzahlen der Patienten mit PDA-c und PDA-u lagen leicht darunter. Im Verlauf kommt es bei allen Gruppen im Median an Tag 1 zu einer milden Leukozytose. Im Laufe der Zeit sinken die Leukozyten dann aber bei allen Gruppen wieder in den Referenzbereich ab. Bei den Probanden mit PDA liegt die Anzahl der Leukozyten ab Tag 2, bei denen mit PS ab Tag 3 wieder im Referenzbereich. Zwischen Tag 0 und 1 kommt es je nach Gruppe im Mittel zu einem 2,2- bis 3,1-fachen Anstieg, im Vergleich zum Ausgangswert sind die Mittel-*peak*-Konzentrationen an Tag 1 um das 1,2- bis 1,8-fache angestiegen.

Bei den Hunden mit komplizierter PS zeigt sich ein Tier mit abweichend hohen Werten ab ZP t_1 , die auch am Ende des Studienzeitraums nicht bis in den Referenzbereich absinken. Die SD in dieser Gruppe beträgt zum ZP t_1 $7,72 \times 10^9/l$.

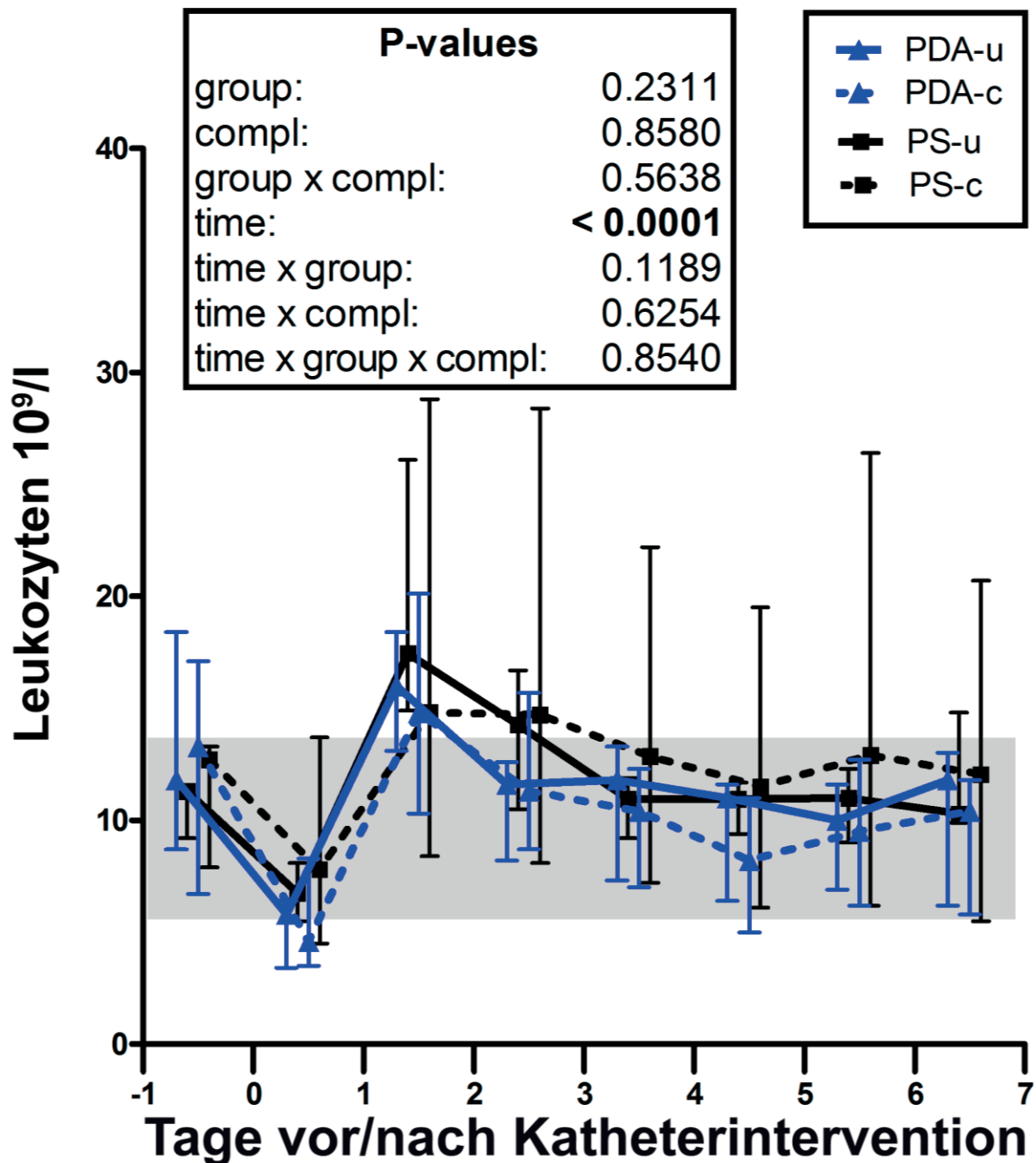


Abbildung 8: Entwicklung der Leukozytenzahl über den Versuchszeitraum. . Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.3.2 Neutrophile Granulozyten

Die neutrophilen Granulozyten weisen einen ähnlichen Verlauf auf wie die Leukozyten. Die Anzahl verändert sich über die Zeit mit $p < 0,0001$ ebenfalls hochsignifikant. Die Hunde mit kompliziertem PDA weisen im Median zu Beginn der Studie eine milde Neutrophilie auf, alle anderen Gruppen liegen zu Beginn im Median innerhalb des Referenzbereichs von $2,78$ bis $8,73 \times 10^9/l$. Bei allen Gruppen zeigt sich zum ZP des Kathetereingriffs ein deutlicher Abfall der Neutrophilen. Nur die Medianwerte der Tiere mit PDA-c liegen zu diesem ZP geringgradig unterhalb des Referenzbereichs, bei allen anderen Tieren liegen sie im Referenzbereich. Anschließend kommt es in allen Gruppen zu steil ansteigenden Werten mit *peak*-Werten oberhalb des Referenzbereichs an Tag 1. Die höchsten medianen Werte erreichen in absteigender Reihenfolge Hunde mit PS-u, PDA-u, PDA-c und PS-c. Im weiteren Verlauf fallen die Tiere mit PDA innerhalb von einem und die Tiere mit PS innerhalb von zwei Tagen mit ihren Medianwerten wieder in den Referenzbereich ab und bleiben dort bis zum Ende des Studienzeitraums. Die Probanden mit PS-c zeigen im Verlauf die höchsten Werte.

Zwischen Tag 0 und 1 kommt es je nach Gruppe im Mittel zu einem 2,5- (PS-c) bis 3,7-fachen (PDA-u) Anstieg, im Vergleich zum Ausgangswert sind die *mean-peak*-Werte an Tag 1 um das 1,3- (PDA-c) bis 2,3-fache (PS-u) angestiegen.

Auch bei den neutrophilen Granulozyten fällt bei den Hunden mit PS-c ein Tier mit Ausreißerwerten auf. Die SD in der Gruppe der PS-c beträgt zum ZP t_1 $6,83 \times 10^9/l$.

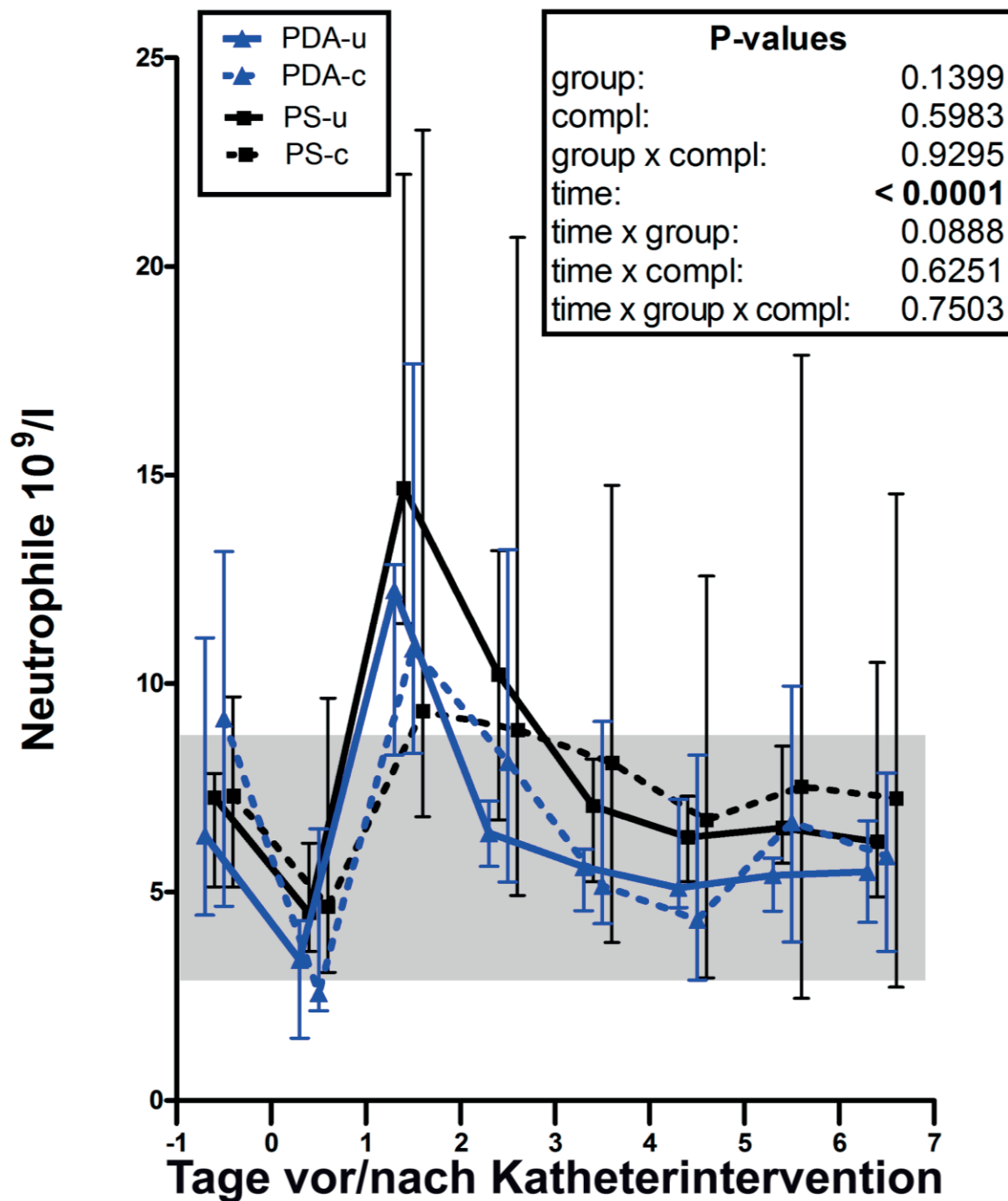


Abbildung 9: Entwicklung der Neutrophilenzahl über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.3.3 Lymphozyten

Bezüglich der Lymphozytenanzahl zeigen sich hochsignifikante ($p < 0,0001$) Veränderungen im Verlauf der Zeit sowie signifikante ($p = 0,0004$) Veränderungen bezüglich Zeit und Komplikation. Während des Kathetereingriffs kommt es in allen Gruppen zu einem deutlichen Abfall der Lymphozytenkonzentrationen wobei der Referenzbereich ($0,72$ bis $4,71 \times 10^9/l$) nicht unterschritten wird. Im weiteren Verlauf steigen die Lymphozyten bei allen Gruppen wieder an und pendeln innerhalb des Referenzbereichs. Lediglich an Tag 6 wird der Referenzbereich im Median in der Gruppe der PDA-us ggr. überschritten.

In der Gruppe der PDA-u gibt es einen Patienten, der höhere Konzentrationen als die anderen Tiere seiner Gruppe aufweist und dessen Werte an Tag t_{-1} , t_3 , t_4 , t_5 und t_6 oberhalb des Referenzbereichs liegen. Dasselbe gilt für ein Tier in der Gruppe der PS-c, hier wird der Referenzbereich lediglich an Tag 0 nicht überschritten. Die SD an Tag 3 für PDA-u und PS-c beträgt $1,76 \times 10^9/l$ bzw. $1,66 \times 10^9/l$.

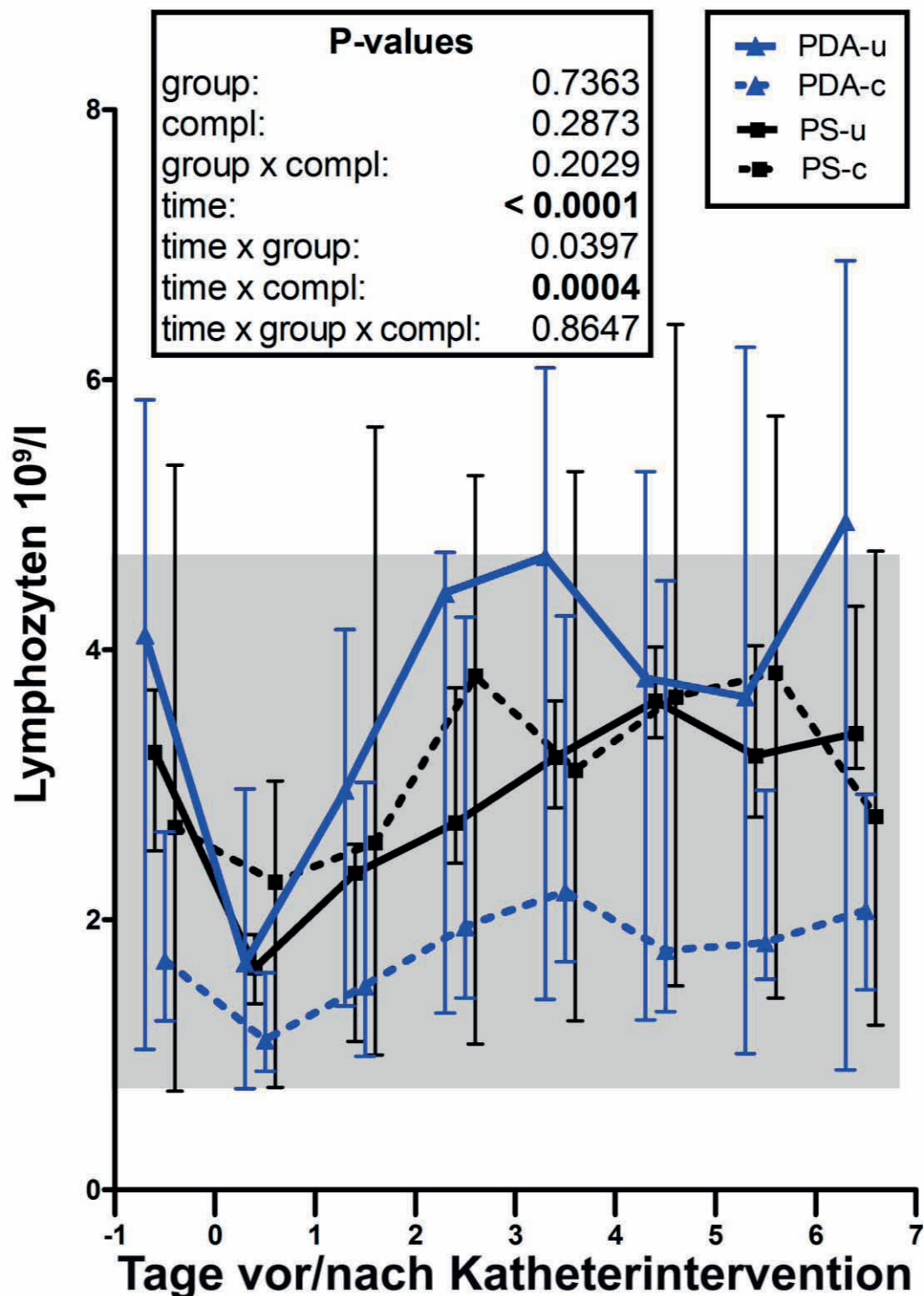


Abbildung 10: Entwicklung der Lymphozytenzahl über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.3.4 Hämatokrit

Es ergibt sich bei den Hkt Werten ein hochsignifikant ($p < 0,0001$) veränderter Zeitverlauf. Die Medianwerte aller Gruppen befinden sich zu Beginn der Studie im Referenzbereich (0,39 bis 0,56 l/l) und fallen dann zum ZP der Intervention (t_0) unter den Referenzbereich. Es ergibt sich im Mittel in allen Gruppen ein 1,3-facher Abfall. Bei PDA-c erholt sich der Hkt bereits am nächsten Tag (t_1). Im Gegensatz dazu befindet sich bei allen anderen Gruppen der Hkt Wert erst ab ZP t_2 wieder im Referenzbereich. Im weiteren Verlauf pendelt der Hkt in allen Gruppen innerhalb des Referenzbereiches. So kommt es beispielsweise in allen Gruppen außer bei PDA-u zum ZP t_4 erneut zu einem ggr. Anstieg. Die Patienten mit PDA-u haben insgesamt die niedrigsten Hkt Werte, allerdings war kein signifikanter Gruppenunterschied zu detektieren.

Ein Tier mit PS-c wies bereits zu Beginn und auch im weiteren Verlauf deutlich niedrigere Hkt Werte im Vergleich zu den anderen Hunden auf. Die Werte liegen außer zum ZP t_{-1} unterhalb des Referenzbereichs und erreichen ihr Minimum ebenfalls zum ZP t_0 . Die SD liegt bei 0,10 l/l. Dasselbe, nur in geringerem Ausmaß (SD zum ZP $t_0 = 0,04$ l/l), gilt für einen Patienten mit PDA-u. Weiterhin zeigt sich bei den Tieren mit PDA-c zum ZP t_4 ein deutlicher Ausreißer auf Werte oberhalb des Referenzbereichs. Die SD in dieser Gruppe beträgt zum ZP t_4 0,098 l/l.

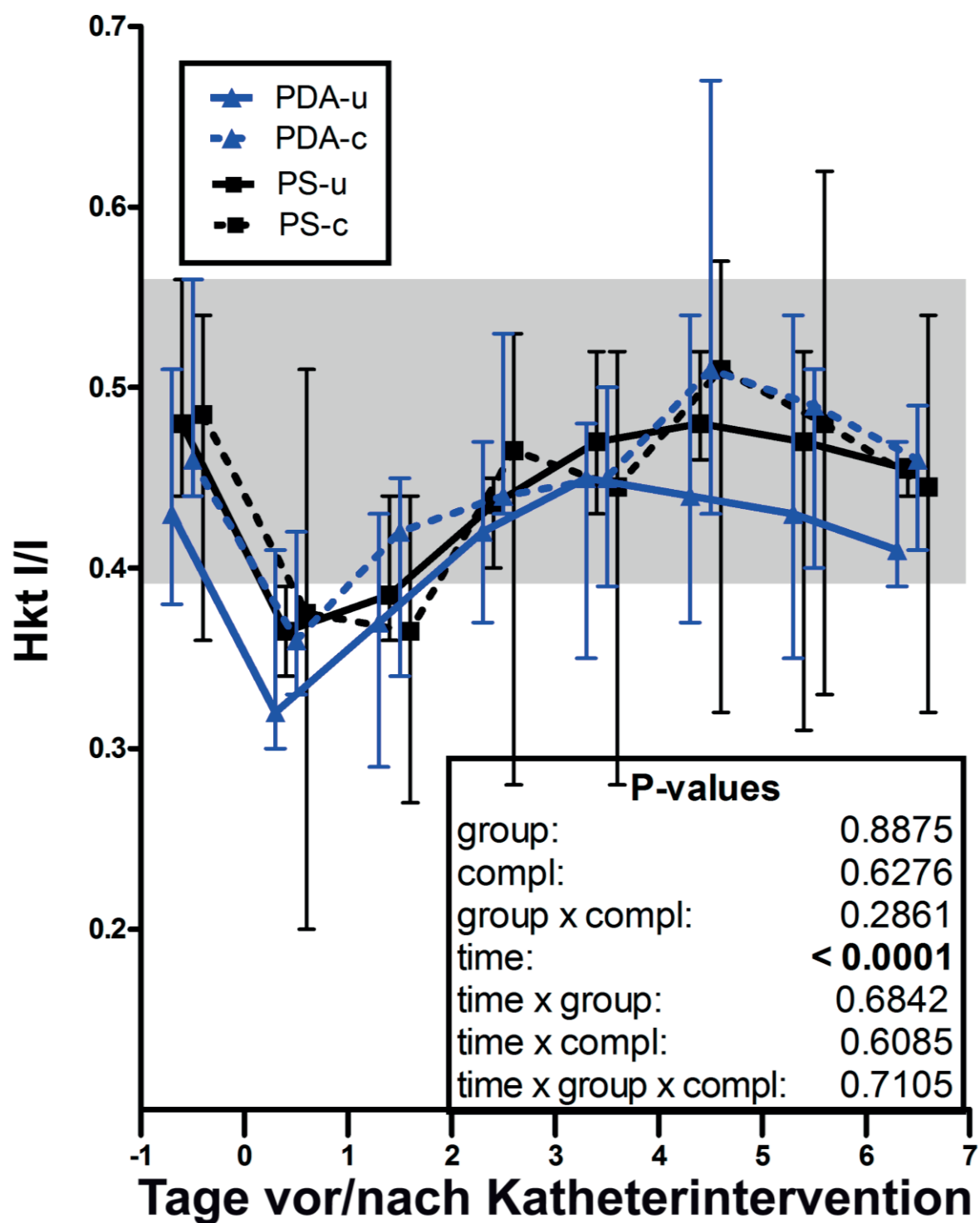


Abbildung 11: Entwicklung der Hämatokritwerte über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.4 Klinische Chemie

3.2.4.4.1 Parameter, die zu allen Zeitpunkten bestimmt wurden

3.2.4.4.1.1 Totalprotein

Die Konzentrationen des TP verändern sich im Zeitverlauf hochsignifikant ($p < 0,0001$).

Der Median der Konzentrationen des Totalproteins aller Tiere liegt zum ZP t_1 im Referenzbereich (55,3 bis 69,84 g/l), wobei die Patienten mit PDA-c höhere Konzentrationen aufweisen im Vergleich zu den Tieren der anderen Gruppen. Es kommt zu einem deutlichen katheterassoziierten Abfall der Konzentrationen des TP bis unterhalb des Referenzbereichs. Im Mittel sinken die TP Werte zwischen ZP t_1 und t_0 bei PDA-u, bei PDA-c, bei PS-u und PS-c um das 1,3-, 1,2-, 1,2- bzw. 1,3-fache. Im weiteren Verlauf erreichen die TP Konzentrationen in allen Gruppen bis Tag 2 oder 3 (PS-u) wieder den Referenzbereich oder steigen sogar darüber hinaus (PS-u, PDA-c). Die Hunde mit PS-c zeigen an Tag 3 im Median einen erneuten Abfall des TP innerhalb des Referenzbereichs. Bei allen Gruppen zeigt sich im Median an Tag 2 (PDA-c und PS-c) bzw. Tag 3 (PDA-u und PS-u) eine höhere Konzentration an TP als zu Studienbeginn. Die TP Konzentrationen sind zum jeweiligen ZP um das 1,08- (PDA-c), 1,1- (PS-c), 1,07- (PDA-u) bzw. 1,2-fache (PS-u) angestiegen. Nach Tag 3 weisen alle Gruppen einen relativ konstanten Verlauf der TP Konzentrationen auf. Die Probanden mit PDA-c zeigen insgesamt im Median höhere TP Werte als die Tiere der anderen Gruppen und zum ZP t_5 liegt die mediane TP Konzentration in dieser Gruppe oberhalb des Referenzbereichs. Ein signifikanter Unterschied bezüglich Gruppe oder Komplikation konnte nicht detektiert werden.

Auffällig ist weiterhin ein Patient mit PS-c, der im gesamten Verlauf aber vor allem ab ZP t_4 auffällig hohe TP Konzentrationen aufweist. Die SD für PS-c zum ZP t_4 beträgt 14,32 g/l. Dieser Patient sowie jeweils einzelne Tiere aus jeder Gruppe, weisen zum Ende der Studie bei ZP t_6 Proteinkonzentrationen oberhalb des Referenzbereichs auf.

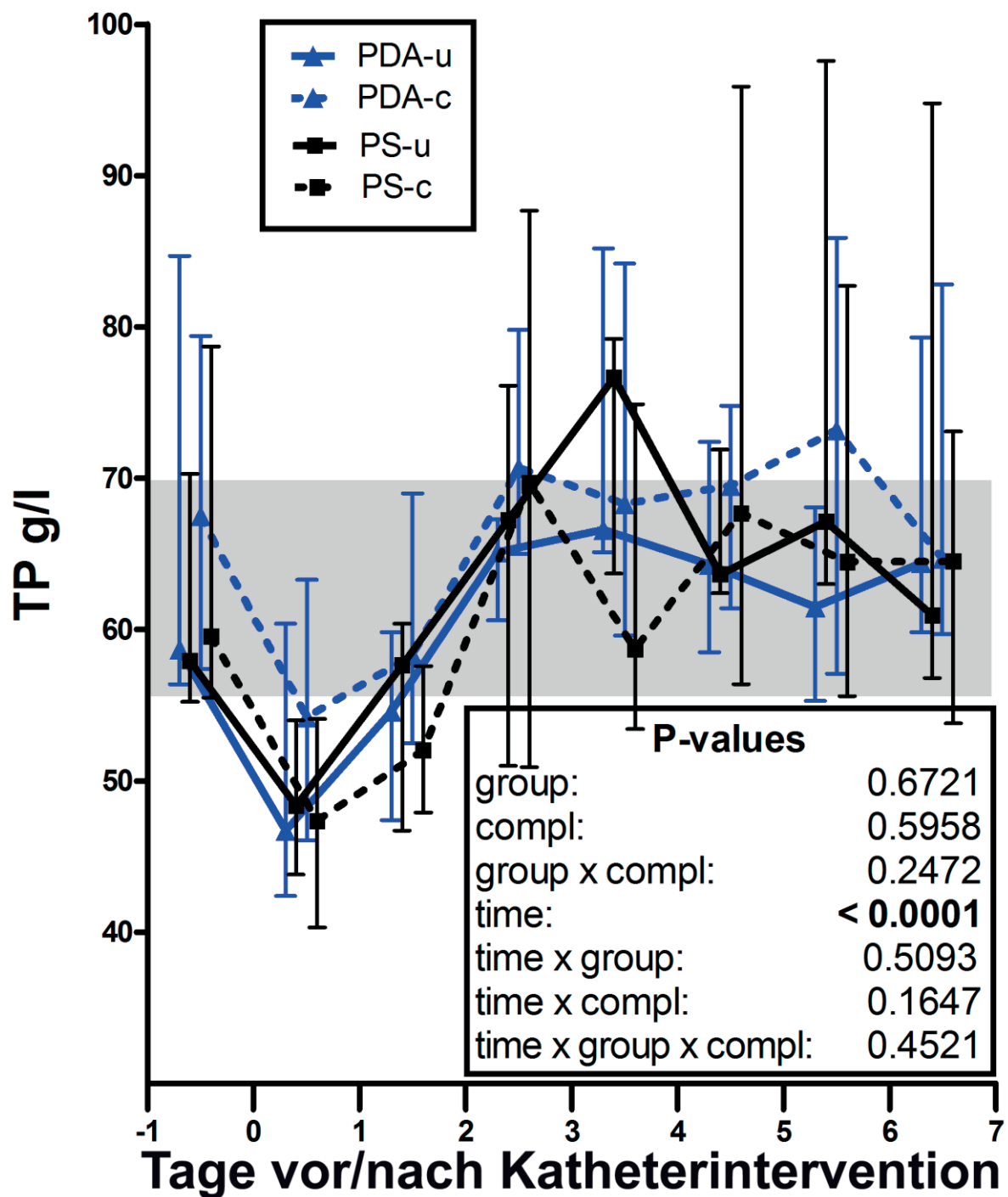


Abbildung 12: Entwicklung der Totalproteinkonzentration über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.4.1.2 Albumin

Für die Entwicklung der Albuminkonzentration im Serum wurde ein hochsignifikant ($p < 0,0001$) veränderter Zeitverlauf sowie eine signifikante ($p = 0,0126$) Abhängigkeit zwischen Zeit und Gruppe beobachtet.

Die Medianwerte der Alb Konzentrationen bei Patienten mit PDA-u liegen zu allen Studienzeitpunkten unter den Medianwerten der anderen Gruppen (außer zum ZP t_1 , an dem die Probanden mit PS-c tiefere Albuminkonzentrationen erreichen). Im Gegensatz zu den Tieren der anderen Gruppen, starten Hunde mit PDA-u im Median unterhalb des Referenzbereichs (29,6 bis 37,01 g/l). Alle Gruppen zeigen im Median zum ZP des Kathetereingriffs (t_0) einen 1,2-fachen Abfall der Alb Konzentrationen im Vergleich zu den Werten zu Studienbeginn. Bei allen Gruppen liegen die Medianwerte zu diesem ZP deutlich unterhalb des Referenzbereichs. Bereits zum ZP t_1 kommt es wieder zu einem Anstieg der Alb Konzentrationen, die sich ab ZP t_2 bei allen Gruppen im Median wieder im Referenzbereich befinden. Sie pendeln im weiteren Verlauf bei allen Gruppen ggr. und befinden sich am Ende der Studie bei allen Gruppen, außer bei den PDA-u Patienten im Referenzbereich. Die Medianwerte der Alb Konzentrationen bei den Hunden mit PDA-u fallen zum ZP t_5 erneut ab und befindet sich am Ende der Studie ggr. unterhalb des Referenzbereichs. Alle medianen Albuminwerte der Gruppen liegen zu Studienende in einem ähnlichen Bereich im Vergleich zu den Werten zu Studienbeginn.

Besonders auffällig ist ein Patient mit PS-c, der im Vergleich zu den medianen Alb Konzentrationen seiner Gruppe vor allem ab dem ZP t_2 deutlich niedrigere Werte aufweist. Die SD in dieser Gruppe zu diesem ZP liegt bei 4,92 g/l.

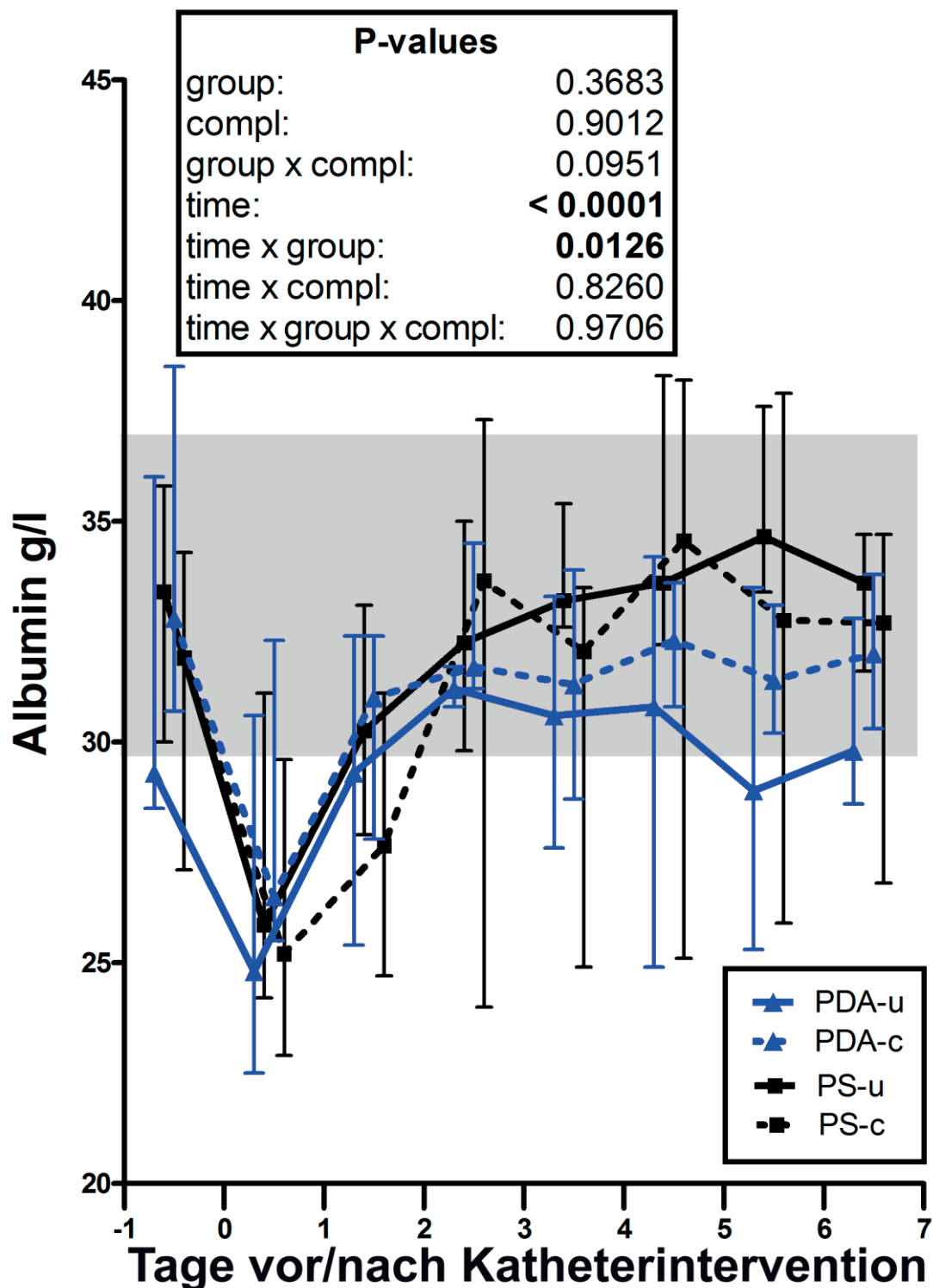


Abbildung 13: Entwicklung der Albumin Konzentrationen über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.4.2 Parameter, die zu ausgewählten Zeitpunkten bestimmt wurden

3.2.4.4.2.1 Globulin

Bei den Globulinen zeigt sich bezüglich der Zeit eine hochsignifikante ($p < 0,0001$) Veränderung.

Insgesamt zeigt sich ein zur Konzentration des TP korrelierender Globulin Konzentrationsverlauf. Auch beim Globulin liegt der Median der Konzentrationen bei allen Gruppen zu Studienbeginn im Referenzbereich (22,9 bis 35,6 g/l). Der Konzentrationsabfall zum ZP der Intervention (t_0) führt im Median bei allen Gruppen, mit Ausnahme der Werte bei den PDA-c Patienten, zu Werten, die geringfügig unterhalb des Referenzbereichs liegen. Die Tiere mit PDA-c weisen auch beim Globulin im Median insgesamt höhere Konzentrationen auf, als es für die anderen Gruppen beobachtet werden kann. Zwischen den ZP t_1 und t_0 sinken die Globulinkonzentrationen im Mittel um das 1,5- (PDA-u und PS-c) und 1,3-fache (PDA-c und PS-u). An Tag 1 (t_1) steigen die Globulinkonzentrationen in allen Gruppen in den Referenzbereich und im weiteren Verlauf an Tag 2 (PDA-c und PS-c) bzw. drei (PDA-u und PS-u) darüber hinaus. Die Gruppe der PS-u weist an Tag 3 im median hohe *peak*-Konzentrationen auf. Wie beim TP sind die Medianwerte aller Gruppen an Tag 2 (PDA-c und PS-c) bzw. Tag 3 (PDA-u und PS-u) höher als zu Studienbeginn. Zum Ende des Studienzeitraums liegen die Mediankonzentrationen des Globulins aller Gruppen wieder im Referenzbereich, liegen zudem aber außer bei den PDA-c oberhalb der Ausgangskonzentrationen.

Zu unterschiedlichen Studienzeitpunkten fallen in jeder Gruppe vereinzelt Globulin-Ausreißerwerte auf. So liegt die SD bei den PDA-u zu Studienbeginn beispielsweise bei 10,55 g/l. Bei den PDA-c beträgt die SD zum ZP t_5 10,44 g/l und bei den PS-u sogar 14,83 g/l. Die SD steigt bei den PS-u zum ZP t_6 auf 17,22 g/l. Bei den PS-c erreicht die SD zum ZP t_4 mit 10,49 g/l ein Maximum. Sowohl zu Studienbeginn (außer bei den PS-u) als auch zu Studienende zeigen einzelne Hunde jeder Gruppe Globulinkonzentrationen oberhalb des Referenzbereichs.

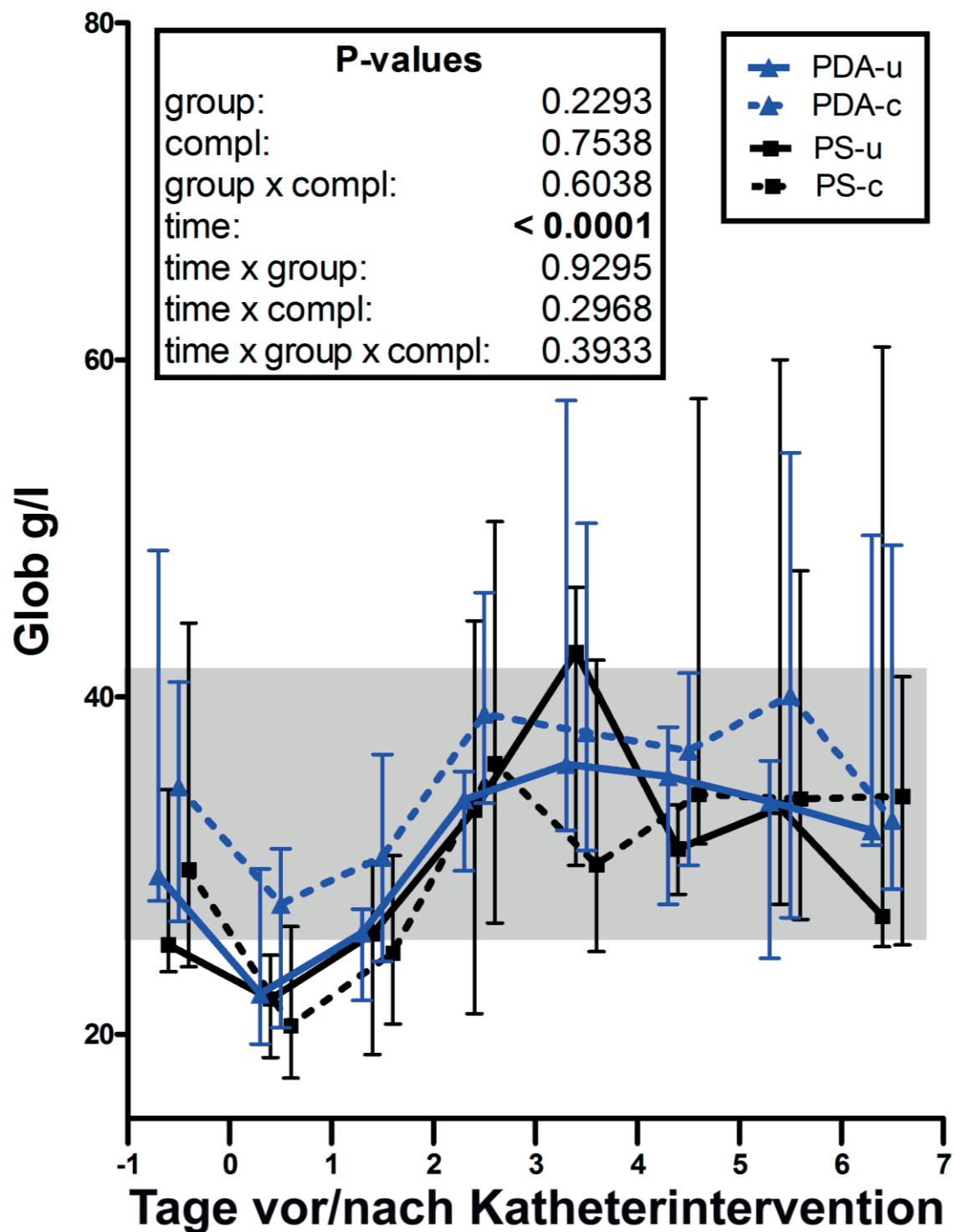


Abbildung 14: Entwicklung der Globulinkonzentrationen über den Versuchszeitraum. Dargestellt sind die Medianwerte zu den einzelnen Zeitpunkten. Dabei zeigen die Balken den erhaltenen Datenbereich an. PDA-u: PDA ohne Komplikationen, PDA-c: PDA mit Komplikationen, PS-u: PS ohne Komplikationen, PS-c: PS mit Komplikationen. Grau unterlegter Bereich: Referenzwerte. Fett gedruckt: statistisch signifikante Werte. -1, 0, 1 bis 6: Zeitpunkte t_{-1} bis t_6 in Tagen vor/nach dem Kathetereingriff.

3.2.4.4.2.2 Ergebnisse des manuellen Blutbildes

Es zeigt sich bezüglich des Auftretens von stabkernigen neutrophilen Granulozyten und reaktiven Lymphozyten ein statistisch signifikanter ($p=0,0078$ bzw. $p=0,0282$) Zusammenhang zwischen Zeit und Komplikationen. Die Parameter Zeit, Komplikationen und Gruppe alleine sowie Gruppe-Komplikationen und Zeit-Gruppe-Komplikationen gemeinsam betrachtet, sind nicht signifikant verändert.

Die Auswertung der Toxizitätsanzeichen der neutrophilen Granulozyten sowie deren Hyposegmentation erbringt in keinem untersuchten Merkmal eine signifikante Veränderung.

•

4 DISKUSSION

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Akute-Phase-Proteine allgemein

Zur Evaluierung der APR nach Katheterintervention wurde der Konzentrationsverlauf von drei positiven und einem negativen APP gemessen. Laut Literatur ist es ein adäquates Vorgehen die Konzentrationen verschiedener APP in Kombination, idealerweise ein *major* und ein *moderate* APP sowie am besten zusätzlich ein negatives APP, zur Evaluierung eines Entzündungsprozesses heranzuziehen [82, 83, 124]. Da die inflammatorische Reaktion nach einer kaninen Herzkatheterintervention anhand von APP bisher nicht untersucht wurde, ist im Vorfeld unklar gewesen, welches APP sich am besten zur Beurteilung der Entzündungsreaktion und Verlaufskontrolle einer Katheterintervention eignet und welches APP die deutlichsten Konzentrationsänderungen über den Verlauf der APR zeigt. Eine Limitation die APP im Therapiemonitoring zu verwenden könnte darin bestehen, dass ein bestimmtes APP gerade bei der zu beurteilenden Erkrankung im Referenzbereich bleibt. Beispielsweise ist in der Humanmedizin bekannt, dass Abstoßungsreaktionen von Nierentransplantaten häufig mit erhöhten SAA, aber normalen CRP Werten einhergehen [313]. SAA steigt im Gegensatz zu Hp und CRP bei der kaninen Spirocercose nicht an [347]. In diesen Fällen kann der jeweilige Konzentrationsverlauf beim einzelnen Patienten als eigener Referenzwert beurteilt werden [82, 298]. Dieser Problematik wurde durch die Bestimmung der Konzentration mehrerer APP bestmöglich entgegnet. Neben CRP, welches als *major* APP beim Hund gilt, wurden mit Hp und AGP auch *moderate* sowie mit Alb ein negatives APP bestimmt. Durch Bestimmung weiterer APP Konzentrationen könnte in Zukunft auch ein APP Index, wie er auch bei anderen Erkrankungen wie beispielsweise der Leishmaniose genutzt wird [300, 436], für sensitivere Evaluierungen einer Inflammationsreaktion nach Herzkathetereingriffen beim Hund herangezogen werden.

Für postoperative Verlaufskontrollen eignen sich serielle Messungen besser als die Evaluierung von APP Konzentrationen einzelner Zeitpunkte [354]. Daher wurden in dieser Studie im Gegensatz zur Studie von Saunders et al. [415], serielle Messungen der Konzentrationen einzelner APP durchgeführt. Dies erlaubt auch die Evaluierung der sog. kritischen Differenz. Der Untersuchungszeitraum von sieben Tagen wurde gewählt, um der Dynamik der Konzentrationen der verschiedenen APP gerecht zu werden. Neben dem *major* APP CRP, das sehr schnell eine Reaktion auf einen Stimulus zeigt und seine *peak*-Konzentrationen zum Teil bereits nach 24h bis 48h erreicht

[78, 82, 95, 126, 345], wurden auch die Konzentrationen der *moderate* APP AGP und Hp gemessen, welche einen langsameren Anstieg mit *peak*-Leveln zum Teil fünf Tage nach dem Stimulus zeigen [82, 95, 317]. Da auch die Länge des Konzentrationsanstiegs und das Abfallen der APP beurteilt werden sollte, wurde sich pro Patient für einen Studienzeitraum von sieben Tagen entschieden.

Zudem wurde während der Studie darauf geachtet, präanalytische Störfaktoren weitestgehend auszuschließen. Es zeigten sich in der Literatur in Citratproben niedrigere CRP Konzentrationen als im Serum. Für Hp zeigten sich höhere Konzentrationen in Heparinplasma als im Serum [301]. Obwohl der Einfluss der Antikoagulanzen nicht als klinisch relevanter Einfluss in Bezug auf die APP Konzentrationen eingeschätzt wird [82, 458, 516], wurde in dieser Dissertation wie empfohlen Serum zur Bestimmung der APP Konzentrationen verwendet [227].

Es wurde für die Veterinärmedizin gezeigt, dass tägliche Blutentnahmen an der Vena jugularis eine niedrige Tag-zu-Tag Variation aufweisen. Daher kann davon ausgegangen werden, dass durch tägliche Blutentnahmen der Verlauf der APP Konzentrationen nicht beeinflusst wird [383]. Palsgaard-Van Lue et al. fanden heraus, dass beim Hund in der Neutrophilen- und Monozytenzahl sowie der CRP Konzentration kein statistisch signifikanter Unterschied bei arteriell und venös gemessenen Blutproben bestand. Dies war bei Wbc, Lymphozyten, Erythrozyten und Thrombozytenzahl, Hb, Hkt, Fb und Thrombinzeit nicht der Fall [369]. Aus diesem Grund ist es für einige Parameter kritisch zu bewerten, dass die Blutprobenentnahmen zu den ZP t_{-1} , t_0 und t_6 zentralvenös an der Vena jugularis und zu den ZP t_1 bis t_5 peripher venös an der Vena cephalica antebrachii oder Vena saphena stattfanden. Dies trifft allerdings nicht auf die Bestimmung der CRP Werte zu und es ist anzunehmen, dass das ebenfalls auf Hp und AGP übertragbar ist. Ein Effekt von Hämolyse, Lipämie und Bilirubinämie auf die Entwicklung und den Verlauf der APR kann abhängig von der jeweiligen Methode, den verwendeten Reagenzien und den Detektionsgeräten nachgewiesen werden. Trotz zum Teil signifikanter Veränderungen haben die Interferenzen insgesamt aber keinen Einfluss auf die klinische Interpretation der Testergebnisse. Ausnahmen sind der Abfall der Hp und CRP Konzentrationen bei hämolytischen Proben, die mit immunoturbidimetrischen Methoden gemessen werden [82, 127, 130, 301, 373, 458, 501]

4.1.2 C-reaktives Protein

Die Immunoturbidimetrie macht sich die Formation von Ag-Ak-Komplexen in Lösung zu nutze. Die Komplexbildung kann spektrophotometrisch detektiert werden, da sich eine Ausflockung einstellt, welche durch Analyse der Licht-Transmission erfasst werden kann. Die Methode dauert nur wenige

Minuten und ist für automatisierte Messungen geeignet. Obwohl aufgrund der strukturellen Unterschiede generell eine schwache oder keine Kreuzreaktion zwischen kaninen CRP- und humanen CRP-Ak besteht, ist es gelungen, kommerziell erhältliche automatisierte humane immunturbidimetrische Immunoassays für den Hund zu validieren [82, 123, 124, 127, 144, 227, 246, 253, 345, 506, 512].

Der Unterschied zwischen kaninem und humanem CRP besteht darin, dass beim Hund zwei der fünf Untereinheiten post-translational glykosyliert vorliegen [78]. Dieser Unterschied erklärt, warum es Schwierigkeiten bereiten kann, einen humanen Ak bei der CRP Bestimmung des Hundes einzusetzen, da das Bindeepitop blockiert vorliegen kann. Obwohl generell speziesspezifische *assays* vorzuziehen sind, kommen einige immunologische Methoden in Frage, mit denen eine ausreichende Kreuzreaktivität besteht, um die Konzentration von kaninem CRP mit humanen immunologischen *assays* zu bestimmen. Probleme können Variationen der Antiseren zwischen den *batches* sein, die zu unterschiedlichen Kreuzreaktivitäten der Ak zum Tierprotein/Antigen führen können. Falls Testkits mit Antiseren gegen andere als die zu testenden Spezies verwendet werden, wird empfohlen eine komplette Validierung für die zu testende Spezies (auch bei Wechsel der Ak *batches*) vorzunehmen und speziesspezifische Kontrollen und Standards zu verwenden [82, 83, 123, 124]. Ein allgemein bekanntes Problem ist das Fehlen von kommerziell erhältlichen, international harmonisierten Referenzstandards zur Kalibrierung sowie ein Fehlen von Kontrollmaterial und die Erhältlichkeit von *assurance* Schemata, mit denen eine Vergleichbarkeit zwischen Resultaten gewährleistet werden könnte [123, 131, 133, 345, 436]. Aus diesem Grund wurde empfohlen, eigenes Material zur internen Qualitätskontrolle herzustellen. In der Literatur ist beispielsweise eine interne Qualitätskontrolle einer kaninen CRP Messung mit einer humanmedizinischen immunturbidimetrischen Methode mittels Kontrollmaterial aus Poolplasma beschrieben [247]. Der in der vorliegenden Studie verwendete humanmedizinische *assay* wurde auch für das Schwein validiert. Auch in dieser Studie wird auf die Verwendung von speziesspezifischen Standards hingewiesen [248].

Der in der Studie verwendete Test wurde 2011 von Wong et al. für den Hund validiert [506]. Bereits ein Jahr zuvor validierten Klenner et al. den verwendeten humanen CRP *assay* bereits laborintern. Wie erwähnt wurden im Rahmen dieser Studie die Linearität, die *intraassay* und *interassay* CV, ein Methodenvergleich mit einem ELISA sowie die Evaluierung des diagnostischen *cut offs* durchgeführt und ein kaniner Referenzbereich bestimmt. Laut Klenner et al. handelt es sich beim Randox-*assay* um einen geeigneten Test, um abnormal hohe CRP Konzentrationen beim Hund zu detektieren. Der Randox *assay* überschätzt CRP Konzentrationen im hohen Bereich leicht, zeigt aber insgesamt einen

guten Korrelationskoeffizienten von $>0,98$. Die Präzisionsstudie zeigte einen guten *intraassay* CV von 1% bis 10%. Der *interassay* CV lag bei 18%. Der obere Referenzwert wurde bei 9,4 mg/l festgelegt [253]. In der Studie von Klenner et al. wurde weiterhin keine CRP Konzentration über 50 mg/l detektiert, was ungewöhnlich erscheint, da dies sowohl bei der Referenzmethode der Fall war als auch regelmäßig bei Hunden mit infektiöser Grunderkrankung vorkommt. Das Vorkommen von niedrigeren kaninen CRP Konzentrationen bei humanen CRP Tests im Vergleich zu den *assays*, die für Hunde entwickelt wurden, kann für eine niedrige Antikörperbindungskapazität sprechen [253]. Obwohl der Test gut geeignet ist, um abnormal hohe CRP Konzentrationen zu detektieren, sollte für diese Studie durch die Verwendung von speziesspezifischem Kontroll- und Kalibrationsmaterial die Präzision und Genauigkeit verbessert werden. Durch die Verwendung von speziesspezifischem Kalibrationsmaterial kann eine Vermeidung der Unterschätzung des CRPs bei hohen Konzentrationen und somit eine Erweiterung des dynamischen Bereichs des Tests erreicht werden. Dadurch dass AK zu den homologen Ag eine höhere Kreuzreaktivität und damit Bindungsaffinität im Vergleich zu heterologen AK aufweisen, kann in diesem Fall die Konzentration des heterologen Proteins (canines CRP) proportional unterschätzt werden, was in einem eingeschränkten linearen Bereich resultiert. Durch hundespezifisches Kalibrationsmaterial kann die Form der Kalibrationskurve diese proportionale Unterschätzung teilweise kompensieren und den dynamischen Bereich erweitern, in dem eine Linearität zwischen der CRP Konzentration und dem Messsignal besteht. Ebenso werden die *batch-to-batch* Variationen (Veränderungen der Kreuzreaktivität zwischen den *batches* kommen häufig vor, wenn polyklonale AK für heterologe Zwecke genutzt werden) durch das hundespezifische Kalibrationsmaterial verringert. Auch die Verwendung von hundespezifischem Kontrollmaterial ist humanem Kontrollmaterial vorzuziehen. Wird humanes CRP als Kontrolle verwendet, so werden oftmals kritische Verschiebungen der Präzision und Genauigkeit nicht erfasst [244, 253]. Wie empfohlen wurden in der vorliegenden Studie zwei unabhängige Quellen für Kontroll- und Kalibrationsmaterial verwendet. Der *batch-to-batch* Variation wurde in dieser Studie ebenfalls durch die durchgängige Verwendung von nur einem *batch* vorgebeugt.

4.1.3 Haptoglobin

Es wurde ein automatisierter, kommerziell erhältlicher multispezies *assay* (u.a Hund, Katze, Pferd, Rind) verwendet, der auf der biochemischen Methode der Spektrophotometrie beruht und bei dem durch ein optimiertes Nachweisreagenz keine unspezifische Wechselwirkung mit Alb besteht. Zuvor bestand eine Interferenz mit Serumalbumin, wodurch erhöhte Konzentrationswerte resultierten, so

dass die Interpretation der Ergebnisse erschwert war [130]. Der beschriebene Test findet auch erfolgreich Anwendung bei Wildtieren wie Schwarzfersenantilope, Sumpfantilope, Moschusochse und bei Schimpansen [44].

4.1.4 α 1-saures-Glykoprotein

Die *single radial immunodiffusion* ist eine für die Konzentrationsbestimmung von AGP etablierte und häufig angewendete Methode, die zudem speziesspezifisch ist. Für Routinemessungen limitierend ist die lange Wartezeit bis zum Ablesen der Ergebnisse. Diese stellte für diese Studienzwecke aber kein Problem dar. Um Ablesevarianzen zu vermeiden, wurde die Größe der Präzipitationsringe ausschließlich von der Autorin bestimmt. Dennoch besteht darin eine im Vergleich zu automatisierten Methoden potentielle Fehlerquelle.

4.1.5 Hämatologie und klinische Chemie

Es ist bekannt, dass hämatologische Parameter bei Lagerung bei +7°C über 48h stabil bleiben [14]. Die Untersuchungen von Hämatologie und klinischer Chemie werden als Routineverfahren im Zentrallabor des Fachbereiches Veterinärmedizin durchgeführt. Kalibrierung und Geräteüberwachung werden von geschultem Laborpersonal nach allgemein anerkannten Standards (in SOPs dokumentiert) durchgeführt.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Patienten

4.2.1.1 Rassen

Reinrassige Hunde zeigen im Vergleich zu Mischlingen eine statistisch signifikant höhere Wahrscheinlichkeit mit kongenitaler Herzerkrankung vorgestellt zu werden [364]. Dennoch sind auch viele Mischlingshunde (je nach Studie 5,8% bis 10,5%) betroffen [413, 477].

Häufig betroffene Rassen mit einem PDA sind Deutscher Schäferhund (DSH), Dackel, Chihuahua, *Yorkshire Terrier* und *Shetland sheepdog* [36, 364, 413, 460, 477]. Oliveira et al. zeigten auch für den *Australian Sheperd* ein deutlich höheres PDA-Risiko. Dafür konnten Rasseprädispositionen für Pudel, Pomeranian, Collie, *Shetland Sheepdog* und *Yorkshire Terrier*, die in anderen Studien vorkamen [379, 413], in dieser Studie nicht bestätigt werden [364]. In einer anderen Studie kam eine hohe Prävalenz von CKCS vor [476, 477]. Auch *Border Collie*, *Cocker Spaniel* [442], Malteser und Bichon Frisé [413] sind häufig vertreten.

Bezüglich PS werden in der Literatur *Golden Retriever*, *Border Terrier*, Pomeraner, CKCS, *Sussex Spaniel*, Französische und Englische Bulldoggen und Riesenschnauzer, Boxer, Chihuahua und *West Highland White Terrier* als prädisponiert angegeben [36, 64, 223, 224, 364, 379, 460]. *Labrador Retriever*, CVKCS, und Bulldoggen wurden in Übereinstimmung mit anderen Studien aus dem *United Kingdom* bei Johnson et al. ebenfalls häufig mit PS vorgestellt [223, 224]. Stafford-Johnson et al. fanden zusätzlich *Yorkshire Terrier*, Francis et al. *Beagle*, *Mastiff* und Samoyede häufig vor [143, 442]. Oliveira et al. konnten die beschriebenen Prädispositionen für *Labrador Retriever* und *Yorkshire Terrier* nicht bestätigen [364]. Insgesamt wird die PS eher bei mittleren und kleinen Hunderassen diagnostiziert [164].

Die Rasseverteilung dieser Studie entspricht beim PDA nur teilweise der Literatur. Es waren ein DSH sowie zwei weiße Schäferhunde vertreten, was ebenfalls durch die vorhandene Literatur unterstützt wird. Allerdings kamen Mischlinge mit 3/10 Hunden am häufigsten vor. Alle anderen vertretenen Hunderassen sind nicht als prädisponiert beschrieben. Auch für die PS zeigten sich bei unseren Patienten andere Rassen im Vergleich zu denjenigen, die als typisch beschrieben wurden. Es fand sich als prädisponierte Rasse lediglich eine Französische Bulldogge.

Bei der richtigen Interpretation dieser Befunde muss bedacht werden, dass es sich bei der Studienpopulation durch das Ausschlusskriterium eines Gewichts von <10 kg bezüglich der Rasseverteilung um eine verfälschte Population handelt. Dies gilt vor allem für die PS, da diese häufig mittlere und kleine Hunderassen betrifft [164]. Weiterhin kommt der PDA bei Rassen mit

unterschiedlicher geographischer Häufung vor. So ist beispielsweise der Welsh Corgi in Australien, aber nicht in anderen geographischen Regionen häufig betroffen [442]. Es wäre möglich, dass in Deutschland andere Rassen häufiger betroffen sind, als beispielsweise in Italien oder in der Schweiz, für die es entsprechende Studien gibt [36, 364, 379, 460, 476, 477].

Auch bezüglich der APP Konzentrationen ist die Rasseverteilung teilweise relevant. Klinisch gesunde *Yorkshire Terrier* und Dachshunde haben im Vergleich zu Pudeln, *Cocker Spaniel*, *Labrador Retrievern* und DSH niedrigere AGP Referenzwerte. Hierbei ist allerdings die weite Spannbreite des AGP Referenzwertes zu beachten [82, 459]. *Greyhounds* zeigen signifikant niedrigere Konzentrationen von ASG (*acid soluble glykoprotein*) als Nicht-*Greyhounds*, allerdings ist unklar ob AGP oder ein anderes Protein hierfür verantwortlich ist [96]. Andere rasse- oder geschlechtsabhängige Unterschiede in der AGP Serumkonzentration liegen nicht vor [82, 521]. Galgo Espanols haben ggr. höhere Hp Konzentrationswerte als andere Hunderassen. Das könnte rassespezifisch oder durch eine subklinische Inflammation einiger Hunde der Studienpopulation bedingt sein. *Greyhounds* weisen signifikant niedrigere Hp Konzentrationen auf als Nicht-*Greyhounds*, wobei der Mechanismus hierfür unklar ist [96, 525]. Gesunde Miniaturschnauzer haben, verglichen mit gesunden Hunden anderer Rassen, signifikant höhere CRP Werte [506]. Insgesamt ist nicht davon auszugehen, dass durch die beschriebenen rasseabhängigen Variationen die Ergebnisse der Studienpopulation signifikant beeinflusst werden.

4.2.1.2 Alter

Das mediane Alter bei Gruppe 1 (PDA) mit 15,5 Monaten und Gruppe 2 (PS) mit 12,5 Monaten zum ZP der Vorstellung ist vergleichbar mit dem aus anderen Studien über kongenitale Herzerkrankungen beim Hund [460, 477] bzw. zum Teil auch niedriger [364] oder höher [413].

Auch das Alter könnte einen Einfluss auf die Konzentrationen der APP haben. Schweine zeigen als Jungtiere (bis zur 20ten Lebenswoche) bis zu 40-mal höhere AGP Level als adulte Tiere, sodass der Einsatz bei Schweinen erschwert ist [123, 207, 227]. In Bezug auf den Hund konnte in einigen Studien kein Einfluss des Alters auf AGP Konzentrationen nachgewiesen werden [182, 271], in einer anderen hatten neugeborene Hunde signifikant niedrigere AGP Konzentrationen, die innerhalb der ersten drei Lebensmonate auf die Werte adulter Hunde anstiegen [521]. Für Hp ist zwar beim Pferd eine Altersabhängigkeit bekannt [453], nach Wissen der Autorin ist dies aber nicht für den Hund der Fall. Bei gesunden Hunden finden sich keine alters- oder geschlechtsabhängigen Unterschiede in der Serumkonzentration von CRP [270, 516], allerdings zeigen adulte bzw. drei Monate alte Tiere

während akuten entzündlichen Prozessen einen höheren CRP *peak* als einen Monat alte Welpen [182]. Die Beurteilung der CRP Konzentrationen muss daher bei sehr jungen Welpen vorsichtig erfolgen. Da die jüngsten Tiere der Studienpopulation vier Monate alt waren, ist mit keiner Beeinflussung der APP Konzentrationen zu rechnen.

4.2.1.3 Geschlecht

In der Literatur finden sich mehr männliche Hunde (64%) mit PS. Für den PDA zeigt sich eine Überrepräsentanz an weiblichen Tieren (mit 67% bis 75% je nach Studie) [364, 413, 460, 477]. In der vorliegenden Studienpopulation finden sich 8/10 weibliche Tiere mit PDA und 7/10 männliche Tiere mit PS, was somit der Literatur entspricht.

Geschlechtsabhängige Unterschiede in der AGP Serumkonzentration liegen nicht vor [82, 521]. Auch bezüglich der CRP Konzentrationen fanden Klenner et al. keinen signifikanten Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Tieren [253].

4.2.1.4 Gewicht

Einschlusskriterium zur Studie war ein Gewicht von >10 kg damit das Blutprobenvolumen keine Belastung für die Patienten bedingte. Daher zeigen sich in unserer Studie schwerere Tiere als in der Literatur für den PDA beschrieben [413]. Bezüglich dieser selektierten Patientenauswahl ist zu bedenken, dass es einen Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht und dem minimalen Ductusdurchmesser gibt. Weiterhin findet sich ein negativer Einfluss der PDA Größe auf den kompletten Verschluss (eher bei der Verwendung von *coils*) und ggf. eine höhere Komplikationsrate [189]. Burreau et al. konnten bei Patienten mit PDA, die mittels chirurgischer Ligation behandelt wurden, zeigen, dass bei einem Gewicht >23kg eine erhöhte intraoperative Todesrate bestand [60]. Saunders et al. zeigten allerdings, dass schwerere Hunde beim *follow up* persistierend erhöhte *left ventricular internal diameter end systole* und erniedrigte *fractional shortening* Werte hatten, wobei das Körpergewicht keinen negativen Einfluss auf das Überleben darstellte [413].

Es zeigte sich, dass kachektische Menschen nach elektiven chirurgischen Eingriffen einen signifikant niedrigeren CRP Anstieg aufwiesen als wohlgenährte. Es liegt eine signifikante Korrelation zwischen der CRP Konzentration (sowie SAA, AGP und LBP) und dem Bodymassindex bzw. der Leptinkonzentrationen vor. Menschen mit einem hohen Body-Mass-Index (Adipozyten produzieren proinflammatorische Zytokine und ggf. auch CRP selbst) zeigen erhöhte CRP Werte [475]. Bezüglich des Gewichts und der CRP Konzentrationen gibt es in der Veterinärmedizin unterschiedliche

Aussagen [437, 467, 480]. Es scheint beim Hund ein Zusammenhang zwischen Adipositas und CRP zu bestehen. Beim Hund sinken mediane CRP Werte signifikant nach einem Gewichtsverlust. Gewichtsverlust kann laut Wakshlag et al. eine chronische Entzündung vermindern bzw. Adipokine können eine milde Inflammation induzieren [494]. Experimentell erzeugtes Übergewicht beim *Beagle* sorgte nicht für eine signifikante Veränderung der Konzentrationen der APP CRP, Hp, SAA und Cp [467]. In einer Studie, bei der CRP Konzentrationen normalgewichtiger Hunde mit denen adipöser Tieren verglichen wurden, war die CRP Produktion beim Hund durch Übergewicht und Insulinresistenz sogar inhibiert [480]. Laut Slavov et al. zeigen übergewichtige Hunde allerdings einen schnelleren und höheren CRP Anstieg als normalgewichtige Hunde und es wurde geschlussfolgert, dass Obesitas die APP Produktion beim Hund fördert [437]. Die Fütterung adipöser Hunde mit einer energierestriktiven Diät mit kurzkettigen Fructooligosacchariden führte zum Gewichtsverlust und einer signifikanten Reduktion der Hp Level [394].

Trotz des Gewichtes von >10 kg war keines der Tiere der Studienpopulation adipös. Das Tier mit dem dekompenzierten PDA hatte im Gegenteil einen ggr. verminderten *Body condition score* von 4/9. Dies kann durch die Grunderkrankung erklärt werden. Auch in der Literatur existieren Studien, bei denen bei einigen Patienten mit PDA ein verminderter Wachstums- und Ernährungszustand beschrieben wurde. Die Freisetzung der Zytokine TNF- α , IL-1 und IL-6 wurde mit kardialer Kachexie assoziiert und es ist möglich, dass diese Faktoren ebenso wie ein reduzierter Wachstumsmetabolismus in schlechtem Wachstum von Tieren mit angeborenen Herzerkrankungen resultieren [477].

4.2.1.5 Anamnese/Vorbehandlung

75% der Hund mit angeborenen Herzmalformationen sind zum Zeitpunkt der Vorstellung asymptomatisch. Genauer sind es beim PDA 69% bis 83% und bei der PS 73% [413, 460, 477]. In der vorliegenden Studienpopulation zeigten 50% der Hunde mit PDA und nur 30% der Tiere mit PS für die Besitzer keine Symptome. Dies ist dadurch zu erklären, dass vorselektierte Patienten vorgestellt wurden und ggf. Besitzer beim Auftreten von Symptomen auch eher bereit sind, eine kostenintensive Katheterintervention bei ihren Tieren durchführen zu lassen. Die hohe Anzahl der vorgestellten Patienten mit PS und Symptomen lässt sich weiterhin dadurch erklären, dass nur bei mgr.-hgr. ausgeprägter PS ein interventioneller Eingriff empfohlen wird und diese Tiere eher Symptome der Grunderkrankung aufweisen.

Neben den typischen Symptomen ihrer Grunderkrankung zeigten einige Hunde zusätzliche Symptome. Bei den Erkrankungen wie Konjunktivitis, chronischer Inkontinenz, vorangegangener und

erfolgreich therapierter Zystitis sowie Hüftdysplasie und Lahmheit ist nicht von einer Initiierung einer APR auszugehen. Zudem war es Voraussetzung für die Durchführung der Katheterintervention, dass der basale CRP Wert und die hämatologischen Parameter im Referenzbereich lagen.

Die Medikamente, die zur Behandlung der Grunderkrankung bzw. bei einem Hund der Folgeerscheinungen der Dekompensation eingesetzt wurden, lösen ebenso wie Caniphedrin und Ofloxacin-haltige Augentropfen, ebenfalls keine APR aus. In der Humanmedizin wurde gezeigt, dass β -Blocker die CRP Konzentration beeinflussen können. Patienten die mit β -Blockern vorbehandelt wurden, hatten signifikant niedrigere CRP Werte als solche die keine β -Blocker erhielten. Es zeigte sich kein Unterschied zwischen Typ und Dosierung des β -Blockers [217]. Es ist also denkbar, dass die Hunde mit PS, die ebenfalls mit dem β -Blocker Atenolol vorbehandelt waren, "falsch" niedrige CRP Konzentrationen aufweisen. *In vitro* wurde für Diltiazem gezeigt, dass es eine Herabregulierung von APP induzieren kann [405]. Dies ist theoretisch auch beim Hund *in vivo* möglich, sodass der Hund mit dem kongestiven Herzversagen, der Diltiazem erhielt, ohne diese Medikation noch höhere APP Konzentrationen hätte aufweisen können. Nach Wissen der Autorin liegen dazu beim Hund keine Studien vor. Beim Hund beeinflussen nur wenige Medikamente die CRP Konzentrationen [382]. CRP Werte werden durch Glukokortikoidgabe nicht signifikant verändert. Prostaglandininhibitoren, die während einer *Escherichia coli*-Sepsis verabreicht werden, beeinflussen die CRP Konzentrationen ebenfalls nicht. Das selbe gilt für die nicht-steroidalen Antiphlogistika Meloxicam und Caprofen [79, 82, 201, 268, 303, 366]. Glukokortikoide induzieren wie beschrieben die Hp Produktion [82, 83, 126, 181, 227, 303, 316, 317, 404], wurden aber in dieser Studie nicht verabreicht. Einen Anstieg der Hp Konzentrationen sieht man auch nach der Applikation anderer Medikamente wie Anthelmintika, Phenobarbital oder Meglumine Antimoniate [82, 298, 303, 465], die ebenfalls nicht appliziert wurden. Die verabreichten Medikamente beeinflussen die AGP Konzentration nicht, allerdings kann es umgekehrt durch den Anstieg des AGPs zu einer veränderten Konzentration der Medikamente kommen (siehe 4.2.4.2.3).

4.2.1.6 Klinische Untersuchung bei Erstvorstellung (außer Vitalparamter)

Bei allen Hunden der Studie war in Übereinstimmung mit der Literatur auch ein Herzgeräusch zu detektieren. Ein HG war bei 149/151 Hunden mit angeborenen Herzfehlern [460] bzw. bei 481/520 (92,5%) Hunden mit PDA [413] zu hören. Auf das auskultatorisch zu detektierende Vorhofflimmern wird in Abschnitt 4.2.5.1.1 eingegangen.

4.2.2 Katheterintervention

Komplikationen bei einer unselektierten Population von PDA Patienten umfassen Blutungen, systemische oder pulmonale Dislokation (verursacht meist kein Problem,) bzw. Embolisation der *coils* in Aorta oder PA, hämodynamisch relevanter *Restshunt*, Arrhythmien, pulmonale Stenose (vor allem linke PA) und Aortenstenose durch Protrusion des *device* in den Ductus, sowie mechanische Hämolyse bei unvollständigem Verschluss. Die meisten der Komplikationen waren mit einem großen PDA und zusätzlichen Faktoren wie kongestives Herzversagen, die Nutzung multipler *coils* und großem *Restshunt* assoziiert. Für den transvenösen Zugang beschriebene Komplikationen sind Arrhythmien, schwieriger retrograde Zugang zum PDA und Verknotung der Freigabehülle [68, 164, 186, 189, 413, 454]. Seltene Komplikationen sind Hautirritationen, pulmonale Hypertension, Endokarditis, Arteriitis und Aortenaneurysma [68]. Späte Komplikationen wie *Restshunt*fluss und Rekanalisierung sind selten, können aber klinisch signifikant werden. Hunde mit hämodynamisch relevanten *Restshunt* sollten einem zweiten Eingriff unterzogen werden [48, 68, 164, 413]. Eine transvaskuläre Hämolyse ist beim Menschen und beim Hund beschrieben worden und wird durch physikalische Schädigung und mechanische Zerstörung der Erythrozyten im noch offenen PDA mit hoher *Restshunt*geschwindigkeit verursacht. Hämolyse ist in der Humanmedizin eine seltene Komplikation und kommt bei <1% der Fälle vor. In der Humanmedizin sind Progression zu Änämie, Ikterus und Nierenversagen als Komplikation beschrieben, sodass hier ein sofortiger Verschluss des Ductusflusses angestrebt wird. In der Tiermedizin ist die Hämolyse aber oft nur von einer mäßigen transienten Anämie begleitet [164].

Es existieren Studien, die klinisch relevante Unterschiede zwischen den Zugängen und *devices*, die aktuell für den interventionellen PDA Verschluss genutzt werden, vergleichen. Bei den Hunden mit ACDO zeigten sich signifikant weniger Komplikationen (3% versus 26% bis 33% in den anderen Gruppen, die mittels transarterieller Gianturco *coil*, transarterieller *Amplatz Vascular Plug* und transvenöser Gianturco *coil* behandelt wurden). Der Schweregrad des Restflusses 24h post Intervention war bei der ACDO Gruppe signifikant niedriger als bei den anderen Gruppen. Der ACDO scheint bezüglich der Einfachheit der Nutzung, der Komplikationsrate und der Vollständigkeit des Verschlusses anderen Implantations*devices* überlegen zu sein [434]. Es ist in der Literatur lediglich ein Fall mit Embolization eines ACDOs in die PA zwei Tage nach Entlassung beschrieben. Diese Komplikation endete allerdings fatal [70]. Die Fluoroskopiezeit war bei transvenösen Methoden signifikant länger als in den anderen Gruppen [434]. Ob diese Aspekte auch Einfluss auf die Inflamationsreaktion haben, ist unklar. Eine Untersuchung, die die Entzündungsparameter nach

Implantation verschiedener *devices* vergleicht, wäre wünschenswert. Allerdings sind keine gravierend unterschiedlichen Resultate zu erwarten.

Die Gefahren einer Ballondilatation sind gering. Eine relativ häufige Folge des Eingriffs ist ein Rechtsschenkelblock, der aber keine hämodynamische und damit keine klinische Relevanz hat. Selten treten während des Eingriffs Arrhythmien auf, welche meist harmlos und transient sind. Nur äußerst selten kommt es zu malignen Arrhythmien wie Kammerflimmern, die eine Defibrillation erfordern [164].

Henrich et al. konnten in einer Studie aus unserem Haus zeigen, dass die transvenöse Implantation eines einzelnen ablösbaren *coils* sicher ist und nur kleine Restshunts ohne hämodynamische Relevanz vorkommen [186]. In einer anderen Studie aus unserem Haus, die sich mit transvenöser Embolisation kleiner PDAs mittels einzelner *coils* beschäftigte, zeigen Schneider et al., dass ebenfalls keine Komplikationen im Sinne von pulmonaler oder aortaler Embolisation vorkommen [417]. Auch in einer retrospektiven Studie mit 56 Hunden konnte gezeigt werden, dass eine transvenöse Katheterintervention über die Vena femoralis zur Okklusion eines PDAs mittels *coil* bei Patienten mit einem $PDA \leq 4$ mm und solche >4 mm Durchmesser mittels *Amplatzer Duct Occluder* oder *Amplatzer vascular plugs* mit niedriger Komplikationsrate möglich ist. Die Mortalitätsrate lag bei 1,7% und die Komplikationsrate bei 7% [48]. Dies bestätigen auch Goodrich et al.; schwerwiegende Komplikationen (schwere Blutungen, Lungentrauma) sind mit 12% bei der chirurgischen Methode häufiger zu beobachten als dies bei der minimalinvasiven Methode mit 4,3% der Fall ist [168]. Kleine Komplikationen ohne klinische Auswirkungen (Embolisation von *coils* in die PA) hingegen treten häufiger beim Kathetereingriff (12% versus 26%) auf. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied in der Mortalität (Chirurgie 5,6%, Katheter 2,6%). Der häufigste Mortalitätsgrund ist eine Blutung des PDAs oder der großen Gefäße bei der chirurgischen Variante sowie Blutungen, Herzstillstand und selten systemische Embolisation eines *coils* bei der Katheterintervention. Das Vorhandensein von CHF ist der einzige präoperative Faktor, der mit einem niedrigeren Erfolg und einer höheren Mortalitätsrate verbunden ist [168]. In der Studie von Saunders et al. liegt die Mortalitätsrate (kein signifikanter Unterschied zwischen Chirurgie und Katheterintervention) perioperativ innerhalb der ersten drei Tage bei 2,6% (12/456 Hunden). 2/456 Hunden sind während der Anästhesie, aber vor Start des Eingriffs gestorben. Neun der zwölf betroffenen Hunde verstarben intra- bzw. postoperativ aufgrund von Komplikationen wie embolisierte Coils, perforierte Arterien und Herzstillstand während der Implantation. Nur einer der zwölf Hunde wurde mittels ACDO behandelt. Es wurde errechnet, dass das Risiko des perioperativen Todes bei einem Verhältnis von linkem Atrium zu Aorta von 1,5 2%

beträgt und mit einem Verhältnis von 2,5% auf 20% ansteigt. 2,4% der Hunde (11/456) benötigten einen zweiten Eingriff aufgrund eines Restshunts. Keiner der betroffenen Hunde wurde mittels ACDO behandelt [413]. Campbell et al. berichten bei einem 1,3 kg schweren Hund von einer Blutung an der Arteriotomiestelle, die eine Bluttransfusion erforderte. In unserem Haus wird eine perkutane Seldinger Technik angewendet und für diese Technik wird eine Hämatomkomplikationsrate zwischen 4% und 24% berichtet [68]. Auch die perkutane Katheterisierung über die Brachialarterie zur Angiographie, wie sie in unserer Studie durchgeführt wurde, wird in der Literatur mit einem minimalen Risiko für Blutungen beschrieben [419].

Supraventrikuläre und ventrikuläre Tachyarrhythmien wurden bei Hunden in Zusammenhang mit einer Rechtsherzkatheterisierung berichtet [68]. In einer Studie mit 125 Hunden entwickelte ein Hund eine transiente ventrikuläre Tachykardie. Diese kann nicht durch direkte mechanische Stimulation des Myokards erklärt werden, da diese bei der arteriellen Ductusverschlussstechnik vermieden wird [68].

Es zeigten sich im Verlauf unserer Studie wenige leichte und keine schweren Komplikationen. Während der Katheterintervention wurden nur einmal nicht fatale Herzrhythmusstörungen sowie mehrfach allergische Reaktionen auf Medikamentengabe beobachtet. Wundheilungsstörungen und Hämatome kamen postoperativ selten vor. Obwohl vorteilhaft für die Patienten, stellt dies eine Limitation der Studie dar, da die Frage, ob APP geeignet sind, um komplikationsbehaftete Verläufe schneller detektieren zu können, nicht abschließend beantwortet werden kann.

Es wurde eine Studie veröffentlicht, bei der ein junger Hund nach einer *coil occlusion* eines PDAs eine Septikämie erlitt [454]. In einem weiteren Fallbericht wird über einen zwölf Wochen alten *English Springer Spaniel* berichtet, der eine Woche nach *coil occlusion* eines PDAs mit Lethargie, Erbrechen und Fieber vorgestellt wurde. Die Diagnose lautete Septikämie aufgrund infizierter *coils*. Radiologisch fanden sich außerdem eine partielle Migration der *coils* in die Pulmonalarterie und ein kongestives Herzversagen. Septikämie und Herzversagen wurden erfolgreich therapiert, die *coils* chirurgisch entfernt und eine Resektion des PDAs durchgeführt. Der *coil*, der die PA embolisierte, konnte zwar nicht entfernt werden, der Hund erholte sich aber trotzdem [507]. Eine Bestimmung der Konzentrationen der APP erfolgte in beiden Fällen nicht. Es ist aber gut denkbar, dass dies eine Indikation zur Bestimmung selbiger darstellt. Es ist davon auszugehen, dass ein infizierter *coil* mit hohen APP Konzentrationen einhergeht.

Es existiert weiterhin ein Reviewartikel über kardiovaskuläre Implantatinfektionen. Eine Infektion wird als eine seltene, aber schwerwiegende Komplikation nach der Implantation kardiovaskulärer

devices bewertet. In der Humanmedizin hängt die Prävalenz der nicht klappenassoziierten *device*-Infektionen erheblich vom implantierten *device* ab. Infektionen von Implantaten, die zum Verschluss kongenitaler Defekte verwendet werden, sind selten. Hingegen kommen Infektionen von linksventrikulären *devices* mit einer Häufigkeit von 25% bis 70% vor. In der Veterinärmedizin ist der Einsatz von kardiovaskulären *devices* vorwiegend auf das PDA Verschlussdevice und die Schrittmacherimplantation beschränkt. Die Inzidenz von Infektionen von PDA Verschluss*devices* ist unbekannt, Schrittmacherinfektionen kommen zwischen einem und 16% vor. In einer retrospektiven Auswertung der Universitäten Minnesota und Missouri zwischen 2001 und 2006 waren 9,5% der Schrittmacher und 4,3% (2/47) der PDA Verschluss*devices* infiziert. Auf die Patienten mit Schrittmacherinfektion wird hier nicht näher eingegangen. Beide betroffenen Hunde mit PDA erhielten perioperativ zum ZP der Narkoseeinleitung und während des Eingriffs alle 90 Minuten 22 mg/kg Cefazolin iv.. Danach erhielt Hund 1 keine Antibiose mehr, Hund 2 wurde noch alle 6h über weitere 24h 22mg/kg Cefalozin iv. verabreicht. Bei beiden Tieren wurden *Pasteurellen* kultiviert. Hund 2 wurde erfolgreich mit einer Kombination aus Chirurgie und Antibiotika therapiert (es handelt sich um den von Wood et al. beschriebenen Fall), der Hund 1 wurde auf Besitzerwunsch euthanasiert. Hund 1 wurde 46 Tage, der Hund 2 fünf Tage nach dem Eingriff wieder vorgestellt. Beide hatten ähnliche klinische Symptome mit Lethargie, Anorexie, Tachypnoe und Fieber. Die hämatologischen Resultate waren ebenfalls ähnlich. Beide Tiere hatten eine milde normozytär-normochrome Anämie. Es zeigte sich bei Hund 1 eine normale Neutrophilenzahl mit einem Anstieg der stabkernigen Neutrophilen. Das zweite Tier zeigte eine milde Neutrophilie und ebenfalls einen Anstieg der stabkernigen Neutrophilen sowie eine Thrombozytopenie. Die Analyse der Gerinnungswerte ergab eine leichte Verlängerung der Prothrombinzeit und eine Erhöhung der Fibrinolyseprodukte, die partielle Thromboplastinzeit lag im Referenzbereich. In der klinisch-chemischen Blutuntersuchung zeigte sich bei Hund 1 eine milde Hypoglykämie, Hypoproteinnämie und Hypoalbuminämie, die des zweiten Hundes war unauffällig. Urinkulturen erbrachten bei beiden Hunden negative Ergebnisse [140]. Da beide Tiere erst einige Tage respektive Wochen nach dem Eingriff vorgestellt wurden, ist eine Übertragung der Interpretation der hämatologischen Befunde nicht möglich. Um einen Vergleich mit unserer Studienpopulation zu ermöglichen, wäre eine serielle oder zumindest einmalige Messung der Leukozyten, neutrophilen Granulozyten und Bestimmung der stabkernigen Neutrophilen um den Zeitraum des Eingriffs und der Entlassung nötig. Die Konzentrationen der APP wurden bei beiden Tieren nicht bestimmt, es ist aber von hohen Konzentrationen auszugehen.

Es gibt keine Richtlinien für die Prävention und Therapie der *device*-Infektionen in der Veterinärmedizin, auch die adäquate Dauer der antibiotischen Prophylaxe ist in der Veterinärmedizin unbekannt. Ziel sollte die Prävention der Implantatinfektion sein. Empfehlungen aus der Humanmedizin haben unter anderem zum Ziel, die kontrollierbaren Risikofaktoren zu minimieren und empfehlen eine angemessene antibiotische Prophylaxe zu betreiben. Die Dauer der Antibiotikatherapie nach dem Eingriff wird kontrovers diskutiert. Empfehlungen für kardiothorakotomische Eingriffe geben als optimalen Zeitpunkt beispielsweise 72h nach der Operation an. Bedenkt man die weniger hygienische Lebensweise von Hunden sollten prophylaktische orale Antibiotikagaben laut Fine et al. über ein bis zwei Wochen nach dem Eingriff erfolgen [140]. Eine andere Einschätzung hierzu vertreten Campbell et al.. In der retrospektiven Studie mit 125 Hunden zeigten sich keine relevanten infektiösen Komplikationen, obwohl nur 40% der Tiere eine Antibiotikagabe erhielten [68]. Antibiotika wurden während des Eingriffs in weniger als der Hälfte der Hunde und nach dem Eingriff <5% der Hunde verabreicht. Dieses Vorgehen unterscheidet sich stark vom Prozedere in der Humanmedizin. Hier werden routinemäßig Antibiotika über einen Zeitraum von sechs bis zwölf Monaten (bei Restfluss auch länger) nach interventionellem PDA Verschluss verabreicht. Dies ist der Fall, da in der präantibiotischen Zeit ca. 45% der Menschen mit PDA an Infektionen und nicht an Herzversagen starben. Endothelschäden, die sekundär zu einem persistierendem Ductusfluss nach transvaskulärer Implantation eines Device auftraten, wurden in der Humanmedizin mit einem Risiko für Endokarditis und Endarteriitis assoziiert. Auch Endokarditiden an prothetischen Klappen kommen in der Humanmedizin in 3,2% der Fälle vor und werden meist durch *Staphylokokkenspezies* verursacht. Nach antibiotischer und chirurgischer Therapie fällt die CRP Konzentration im Vergleich zur BSG schneller wieder in den Referenzbereich ab [212]. Es existiert lediglich ein Fallbericht über eine Endokarditis bei einem Hund mit nicht korrigiertem PDA und es gibt keine Berichte über Hunde mit derartigen Problemen nach PDA Verschluss [19]. Außer einer Hautabszedierung bei einem Hund wurde in der Studie von Campbell et al. keine Infektion beobachtet, sodass die Autoren schlussfolgerten, dass ein routinemäßiger Einsatz von Antibiotika beim Hund nicht gerechtfertigt ist [68]. Bei der Entscheidung ob und/oder wie lange ein Antibiotikum nach Katheterintervention beim Hund verabreicht werden soll, könnte die Analyse der APP helfen. Diese Studie hat gezeigt, dass bei komplikationslosem Verlauf ebenso wie bei kleinen Komplikationen die CRP Konzentration nach einem initialen Anstieg wieder abfallen sollte und vier bis fünf Tage postoperativ wieder im Referenzbereich liegen sollte. Ist dies nicht der Fall sollte das

Anlass sein, nach potentiellen schwerwiegenden Komplikationen wie *device*infektionen zu suchen und eine antibiotische Therapie zu beginnen oder fortzuführen.

4.2.3 Ergebnisse der klinischen Untersuchung

4.2.3.1 Allgemeine klinische Untersuchung

4.2.3.1.1 Puls und Atmung

Die Herz- und Atemfrequenz sowie die Körpertemperatur können z.B. durch Aufregung oder Anstrengung physiologisch erhöht sein. Weiterhin kann eine Erhöhung der genannten Parameter einen pathologischen Prozess, wie eine Entzündungsreaktion, anzeigen. Im Bezug auf die spezielle Studienpopulation muss bedacht werden, dass sowohl eine Tachykardie als auch Tachypnoe im Rahmen der Grunderkrankung beispielsweise beim kongestiven Herzversagen vorkommen können. Bei dem Tier mit Vorhofflimmern kann nicht von der Pulsfrequenz auf die Herzfrequenz zurückgeschlossen werden, da von einem Pulsdefizit auszugehen ist.

Herzfrequenzveränderungen und Rythmusstörungen sind häufige humanmedizinische Komplikationen nach kardialer Chirurgie. Die Inflammation, die durch die kardiale Chirurgie ausgelöst wird, ist für postoperative Veränderungen in Herzfrequenz, -rhythmus und Herzratenvariabilität verantwortlich. Die postoperative Herzfrequenz wird vor allem durch eine Reduktion des Vagotonus erhöht. Eine Vielzahl der Veränderungen hängt vom Ausmaß der Inflammation ab, welches durch die Höhe der CRP Konzentration bestimmt werden kann [422].

Die auffällig hohe Pulsfrequenz zum Vorstellungszeitpunkt ist durch die Aufregung der Tiere zum Hospitalisierungszeitpunkt zu erklären. Durch den stationären Aufenthalt verringert sich diese, da sich die Tiere an die Umgebung gewöhnen. Die niedrigen Pulswerte zum ZP t_0 können durch die Anästhesie bedingt sein.

Insgesamt eignen sich die Parameter Puls- und Atemfrequenz dieser Studie nicht zur alleinigen Evaluierung einer Inflammationsreaktion, da sie aufgrund verschiedener nicht pathologischer Einflussfaktoren sowie der Grunderkrankung beeinflusst werden und im Sinne der Detektion einer Entzündung nicht aussagekräftig sind. Dies unterstreicht auch der fehlende Anstieg der Werte nach dem Kathetereingriff und die stets im Referenzbereich liegenden Medianwerte.

4.2.3.1.2 Körperinnentemperatur

Auch die Körperinnentemperatur zeigt ein anästhesieassoziiertes Minimum und pendelt danach im Referenzbereich, sodass anhand der Temperatur nicht auf eine Inflamationsreaktion im Rahmen des Kathetereingriffs geschlossen werden kann.

Warum die Patienten mit PS-u eine deutlich niedrigere Körperinnentemperatur aufweisen und weshalb die signifikanten Unterschiede in Bezug auf Zeit und Gruppe bzw. Zeit und Komplikationen sowie bei gemeinsamer Betrachtung von Zeit, Gruppe und Komplikationen auftreten, ist nicht mit Sicherheit zu beantworten. Ein Zusammenhang mit einer längeren Narkosedauer liegt allerdings nahe. Weiterhin weisen die Patienten mit PS im Median ein niedrigeres Körpergewicht auf und könnten somit mehr Schwierigkeiten mit der Thermoregulation während der Anästhesie haben.

Es ist beschrieben, dass ein Anstieg der CRP Konzentration während einer frühen Infektion vor einer erhöhten rektalen Temperatur auftritt [383].

4.2.3.2 Punktionsstelle und sonstiger klinischer Verlauf

Potentielle Prädispositionen für die Komplikation der beiden betroffenen Hunden mit dem infizierten PDA *device* in der Studie von Fine et al. wurden in beiden Fällen gefunden: ein Tier entwickelte ein Serom an der Inzisionsseite der Arteria femoralis und ein anderer Hund ein mildes Hämatom an der Punktionsstelle der Arteria femoralis. Diese wurden mittels Kompression und *hot-packing* behandelt [140]. In der Humanmedizin existieren eine Vielzahl an Hypothesen zur Pathogenese der *device*-Infektionen. Ein häufiger Erklärungsansatz ist die hämatogene Infektion sekundär zur Bakteriämie und nicht assoziiert mit dem *device*. Dies ist die gängige Erklärung für eine Infektion des PDA Verschlussdevice mit *Pasteurella*-Spezies. *Pasteurella*-Bakterien kommen primär in der Maulhöhle und dem Respirationstrakt von Hunden und Katzen vor. Beide Hunde hatten kleine Komplikationen an der Punktionsstelle. Die Irritation führte vermutlich dazu, dass die Tiere diese Stelle beleckt haben und somit das Potential für eine Bakteriämie erhöht haben. Auch in unserer Studienpopulation kommen kleine Komplikationen wie Hämatome an der Punktionsstelle vor. Dabei ist es wichtig zu wissen, welche Konzentrationen der APP alleine durch das Hämatom bzw. die Wundheilungsstörungen an sich entstehen um sie ggf. von solchen Tieren abgrenzen zu können, die in der Folge schwerwiegendere Komplikationen wie infizierte Implantate entwickeln. Diese Studie unterstreicht weiterhin die Wichtigkeit eines Leckschutzes der Punktionsstelle mittels Halskragen wie sie in unserem Haus durchgeführt wird.

4.2.4 Labordiagnostische Parameter

4.2.4.1 Vorversuche

4.2.4.1.1 C-reaktives Protein

4.2.4.1.1.1 Lagerungsversuch

Bezüglich des präanalytischen Faktors Lagerung sind laut Literatur [72] Messschwankungen von weniger als der zweifachen Standardabweichung erlaubt. Bezogen auf prozentuale Zahlen entspricht das in der vorliegenden Arbeit 11,4%. Abweichungen von mehr als 11,4 % finden sich bei allen Lagerungstemperaturen an den Tagen 8, 22 und 85. Unabhängig davon zeigen die CRP Werte bei Lagerung bei +7°C an Tag 142 eine Abweichung von -14,18% und bei Lagerung bei -20°C an Tag 114 eine Abweichung von 16,36%. Verschiedene Literaturquellen weisen CRP sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin als stabilen Parameter aus. Ridker et al. bezeichnen CRP als hochstabil, auch in gefrorenem Plasma [396]. Ebenso haben Ljungvall et al. sowie Lewis et al. CRP bei -70°C zum Teil über 44 Monate und Riley et al. bei -20°C als stabil getestet [282, 284, 401]. Wong et al. bezeichnen CRP als stabil über sechs Monate, wenn es gefroren wird [506] und Parra et al. testeten das APP als stabilen Parameter wenn er bei verschiedenen Temperaturen über einen Monat gelagert wurde [376]. Casas et al. fügten hinzu, dass wiederholtes Auftauen und Einfrieren keinen Einfluss auf die CRP Konzentration hat [76]. Die Literatur zeigt also, dass sowohl eine Lagerung über einen langen Zeitraum als auch der Gefrier- und Tauungsprozess keinen Einfluss auf die CRP Konzentrationen hat.

Die Ergebnisse des Lagerungsversuchs decken sich nur teilweise mit den Daten aus der Literatur. Die hohen Schwankungen an den Tagen 8, 22 und 85 treten unabhängig von der Lagerungstemperatur auf. Dies kann eher auf ein Kalibrations- als ein Lagerungsproblem hinweisen. Der Lagerungsversuch wurde, im Gegensatz zu den Messungen außerhalb des Vorversuchs, noch vor Umstellen auf speziesspezifisches Kalibrationsmaterial durchgeführt. Dies könnte die Schwankungen der ermittelten CRP Konzentrationen erklären. Es ist bekannt, dass nicht-speziesspezifisches Kalibrationsmaterial *batch-to-batch* Variationen aufweist. Zudem kann es zu Schwankungen in der Kreuzreaktivität des Antikörpers kommen [244]. Bedenkt man dies, zeigt sich also lediglich an den Tagen 142 bzw. 114 bei Lagerung bei +7°C bzw. bei -20°C eine zu hohe Messabweichung. Die Proben für diese Arbeit wurden bei -80°C gelagert. Es ist davon auszugehen, dass dadurch keine Beeinträchtigung der Messwerte entstanden ist.

Für Hp werden in der Literatur die höchsten Stabilitäten für Lagerung bei -70°C bis -80°C angegeben [378, 439, 501].

4.2.4.1.1.2 Referenzwerte

Das errechnete Referenzintervall erstreckte sich zwischen 0,1 bis 26,5 mg/l. Der obere Referenzwert liegt deutlich höher als der von Klenner et al. festgelegte [253], was durch die Verwendung von speziesspezifischem Kontroll- und Kalibrationsmaterial zu erklären ist. Wünschenswert wäre nach Umstellung des Tests auch eine Wiederholung der Linearität- und Präzisionsbestimmung gewesen. Es ist davon auszugehen, dass die Überschätzung der CRP Konzentration im hohen Bereich nicht mehr vorliegt, da ein erweiterter Linearitätsrange und eine verbesserte Präzision vorliegt (siehe 4.1).

Kanine Referenzwerte für CRP schwanken in der Literatur zum Teil erheblich. So gibt beispielsweise Eckersall et al. Werte <10 mg/l [129], Plickert et al. zwischen 0 und 8,9 mg/l [387], Caspi et al. <5 bis 67 µg/ml [79] und et al. 0,48 +/- 0,17 mg/l bzw. 8,4 +/- 4,9 µg/ml bzw. 6,2 +/- 3,9 µg/ml als Referenzwerte an [516, 517]. Da die Messung der APP Konzentrationen von den analytischen Gegebenheiten abhängt, sollte jedes Labor eigene Referenzwerte erstellen. Dies gilt insbesondere, da kein Referenzmaterial für eine internationale Harmonisierung der APP assays für Kleintiere vorliegt [82, 131].

4.2.4.1.2 Haptoglobin

4.2.4.1.2.1 Wiederholbarkeit/Präzision

Die Präzision ist ein Maß für die Reproduzierbarkeit unabhängig voneinander ermittelter Messwerte. Die Genauigkeit beschreibt also die zufällige Streuung von Messwerten. Der *intraassay* CV des Hp lag je nach Konzentration zwischen 1,31% und 9,03% und ist somit als gut zu bezeichnen. Der *interassay* CV für den verwendeten Hp assay lag bei hohen und mittleren Konzentrationen zwischen 4,3% bis 6,57%, was ebenfalls gut ist. Auch der *interassay* CV bei niedrigen Konzentrationen von 13,03% ist noch akzeptabel.

4.2.4.1.2.2 Referenzwerte

Der Referenzbereich ergab sich für Hp in dieser Studie zwischen 0,1 und 2,3 mg/ml.

Der in der Literatur angegebene Referenzbereich für kanines Hp liegt bei 0 bis 3 g/l während Konzentrationen >10g/l mit einem deutlichen Inflamationsprozess vereinbar sind [317]. Die genauen Referenzwerte schwanken je nach Literaturstelle, so geben Parra et al. 0,03 bis 1,88mg/ml und Tecles et al. 0,2 bis 0,4 g/l an [378, 457].

4.2.4.1.2.3 Linearität

Der Korrelationskoeffizient nach Pearson von $r = 0,9970$ ist als gut zu bezeichnen.

4.2.4.1.3 α 1-saures-Glykoprotein

4.2.4.1.3.1 Wiederholbarkeit/Präzision

Der CV im mittleren (5,13% bzw. 3,3%) und hohen (4,55% bzw. 5,3%) Konzentrationsbereich des *within runs* bzw. des *between runs* ist als gut zu bezeichnen. Der CV im niedrigen Konzentrationsbereich liegt beim *within run* bei 18,86% und beim *between run* bei 24,34% und ist somit suboptimal.

4.2.4.1.3.2 Referenzwerte

Für AGP errechnete sich in dieser Studie ein Referenzwert von 131,0 bis 798,0 $\mu\text{g/ml}$.

In der Literatur zeigen gesunde Hunde Werte um 580 mg/l [153]. Beispielsweise geben Yuki et al. Referenzwerte bei *Beagle*n von $283,4 \pm 113,3$ mg/l [522], Thougard et al. von <750 mg/l [459] und Kuibayashi et al. von 40 bis 960 $\mu\text{g/ml}$ [271] an. Die in dieser Studie berechneten Werte decken sich also weitestgehend mit denen aus der Literatur.

4.2.4.2 Akute-Phase-Proteine

Es sollte überprüft werden ob sich die Analyse der APP besser zur Inflamationsdetektion und zum *monitoring* nach Herzkatheteringriff beim Hund eignet als Vitalparameter oder Wbc. Nachdem ein inflammatorischer Stimulus beseitigt wird, sinken die Konzentrationen der APP schneller als andere Entzündungsmarker in den Referenzbereich ab (letztgenannte können bis zur vollständigen Beseitigung der pathogen-induzierten Läsionen erhöht bleiben). Sie bleiben aber erhöht solange das Pathogen nicht eliminiert ist. Im Gegensatz dazu können Vitalparameter oder klinisch-pathologische Parameter durch symptomatische Therapie wieder in den Referenzbereich fallen. So kann die Fragestellung beantwortet werden, ob die beobachteten Veränderungen eine Folge der Wirt-Pathogen Interaktion (APP niedrig) sind oder sich das Pathogen immer noch im Organismus befindet (APP hoch, Konsequenz: Änderung der Therapie) [370, 371].

Bei der Interpretation der APP Konzentration ist zu bedenken, dass es große inter-individuelle Unterschiede gibt. Es ist sinnvoller, den seriellen Verlauf der APP als die absoluten Konzentrationen zu einem bestimmten ZP zu beurteilen [214, 383, 404]. Um die Konzentrationen der APP zu beurteilen, können sie mit dem populationsbasierten Referenzintervall verglichen werden. Werte

oberhalb des Referenzbereichs indizieren eine pathologische Veränderung. Eine andere Möglichkeit der Einschätzung ist die sog. „kritische Differenz“ wobei der Patient als seine eigene Referenz dient und serielle Messungen vorgenommen werden. So kann es sein, dass ein einzelnes Tier mit einem Prozess wie einer Erkrankung, Therapie etc., die die APP Konzentration beeinflussen, Resultate außerhalb des eigenen aber innerhalb des populationsbasierten Referenzbereichs aufweist. Verwendet man den kritischen Differenzwert in Zusammenhang mit den korrespondierenden Referenzwerten, so kann dieser Wert eine Hilfe bei der korrekten Interpretation der Ergebnisse darstellen. Dieses geschieht, indem dieser festlegt, welche Differenzen zwischen zwei aufeinanderfolgenden Messungen bei Einzeltieren auf einer natürlichen Variation oder einer Pathologie bzw. einer Änderung im Verlauf einer Therapie oder einer Versuchsanordnung beruhen [71, 249, 305].

Beispiel für die Verwendung von APP zum postoperativen *management* ist die Verwendung von CRP, SAA und Hp bei Hündinnen nach Ovariohysterektomie bzw. Pyometraoperation. Die APP konnten den initialen Schweregrad der Entzündung anzeigen und die Konzentrationen der APP sanken nach dem chirurgischen Eingriff. Während die SAA und CRP Konzentrationen schnell abfielen, sank das Hp gradueller. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass die APP nützliche diagnostische Marker darstellen, um postoperative Komplikationen anzuzeigen. Postoperativ erneut ansteigende CRP und SAA Konzentrationen sowie persistierend hohe Hp Werte zeigen postoperative Wundinfektionen an. Dadurch wird ein promptes therapeutisches Management beim Auftreten von Komplikationen ermöglicht [102, 104, 105].

Auch in der Humanmedizin werden APP häufig analysiert um postoperative Verläufe zu beurteilen und Therapieentscheidungen zu treffen. So wird beispielsweise anhand der APP entschieden wann eine antibiotische Therapie bei neonataler Septikämie abgesetzt wird [215]. Es existieren diverse Studien bezüglich Herz- und Gefäßerkrankungen, kardiovaskulärer Risiken und APP sowie zu APP in Bezug auf Herzkathetereingriffen zur Therapie von MI, Stenting etc. Man weiß beispielsweise, dass CRP Konzentrationserhöhungen mit dem Langzeitrisiko für MI, Koronarherzerkrankung, Schlaganfall, Progression peripherer Gefäßerkrankung und kardiovaskulärem Tod korrelieren und prognostische Aussagekraft nach z.B. MI haben [47, 57, 76, 176, 261, 280, 321, 382, 383, 396, 397, 409, 427, 520].

Es existiert eine generelle Verbindung zwischen kardialer Funktion und Inflammation. Verschiedene kardiale Erkrankungen (Herzversagen, Myokarditis, kardiale Reperfusionsverletzung, Sepsis assoziierte kardiale Dysfunktion etc.) sind mit einer Zytokinaktivierung (vor allem proinflammatorische Zytokine TNF- α , IL-1 β und IL-6) assoziiert. Durch die Zytokine kommt es zu einer

Modulation der myokardialen Funktion. Proinflammatorische Zytokine beeinträchtigen die kardiale mechanische Funktion temporär in einer biphasischen Art. Es kommt zu einer frühen Reaktion innerhalb von Minuten, die entweder stimulierend oder deprimierend sein kann. Ob kardiodepressive- oder stimulierende Effekte eintreten, ist abhängig vom zellulären und biologischen Milieu, dem Ausmaß der extrakardialen Adaptation und der synergistischen oder gegenspielenden Effekte der verschiedenen beteiligten Zytokine. Ein nachfolgender kardiodepressiver Effekt mit systolischer und diastolischer Dysfunktion, der Stunden bis Tage anhält, ist von der Produktion sekundärer Mediatoren wie NO, reaktiven Sauerstoffspezies und Veränderungen der β -adrenergen Rezeptorsignallings abhängig. Letzterer Effekt ist bei pathologischen Zuständen der wichtigere. Sepsis assoziierte kardiale Dysfunktion wird durch inflammatorische Zytokine (TNF- α , IL-1 β und IL-6, IFN- γ) verursacht. Die intravenöse Verabreichung von TNF- α oder IL-1 β führt bei Tieren zu den hämodynamischen Veränderungen der Endotoxämie und des Endotoxinschocks, während die Administration von IL-1 β Rezeptor-Antagonist oder anti-TNF- α -Ak die kardiovaskulären Abnormalitäten und die Mortalität verbesserten. Studien mit Hunden zeigten, dass die intrakoronare Injektion von IL-1 β eine anhaltende linksventrikuläre Dysfunktion verursacht. Eine einzelne Infusion von rekombinantem humanem TNF- α führte bei Hunden nach 2h bis 2 Tagen zu einer linksventrikulären systolischen Dysfunktion, welche je nach verabreichter Dosis bis zu zehn Tage anhielt. Generell ist die Zytokin-medierte kontraktile Dysfunktion einige Tage nach der Exposition reversibel [391].

Ein schnelles therapeutisches Eingreifen gegen eine Entzündung könnte also gerade bei kardial erkrankten Tieren wichtig sein, um die kardialen Folgeerscheinungen zu minimieren.

Im Mäusemodell zeigt sich ein Zusammenhang zwischen Entzündungsmediatoren und kardialen Problemen. Transgene Mäuse mit einer Überexpression von IL-6 und IL-6 Rezeptor zeigen eine kontinuierliche Aktivierung von gp130 und somit eine Hypertrophie der Ventrikelwand des Herzens. Dies ist durch den erhöhten biologischen Effekt von *Cardiotrophin-1* zu erklären, welches mittels gp130 auf Herzmuskelzellen wirkt [452]. Auch Jawa et al. bezeichnen Herzmuskelhypertrophie als eine Funktion des IL-6 [216]. Mäuse mit homozygoter Störung des gp130 Gens sterben während der Embryonalentwicklung und zeigen einen Defekt in der Herzmuskelentwicklung. Cardiotrophin 1 scheint ein Regulator der myokardialen Funktion zu sein [489].

Bei Menschen mit MI wurden CRP, AGP und alpha1-Antichymotrypsin Konzentrationen sowie AGP und alpha1-Antichymotrypsin Glykolysierungsprofile bei Einlieferung ins Krankenhaus sowie seriell nach 4h, 8h, 12h, 24h und an Tag 2, 3, 6, 9, 12 der Hospitalisation gemessen. Die Patienten wurden

nach Auftreten von akutem Herzversagen in zwei Gruppen unterteilt. Zum ZP der Einlieferung sowie nach 6h und 12h war die CRP Konzentration bei Patienten, die ein Herzversagen entwickelten, signifikant höher. Auch das Glykolyseprofil von alpha1-Antichymotrypsin war ein guter prognostischer Wert. Die Entwicklung eines akuten Herzversagens scheint mehr mit dem Ausmaß der Entzündungsreaktion, gemessen durch Veränderungen der APP Konzentration, als mit der Infarktgröße zu korrelieren [235].

Nach einem elektiven Koronarbypass kommt es in der Humanmedizin ebenfalls zur APR. Endotoxin und IL-6 Konzentrationen steigen laut Berendes et al. während des Eingriffs und zeigen 6h nach Einlieferung auf die ICU *peak*-Werte, um danach wieder abzufallen. Die Konzentrationen von SAA und CRP beginnen nach 6h bis 8h zu steigen und erreichten 24h postoperativ *peak*-Werte [41].

Boralessa et al. zeigten, dass postoperative Messungen der CRP Konzentration nach kardialer Chirurgie mit kardiopulmonalem *bypass* frühzeitig ernsthafte Komplikationen anzeigen kann. Alle Patienten zeigten eine APR mit *peak*-Werten nach 4h, allerdings hatten die unkomplizierten Fälle einen charakteristischen biphasischen Verlauf mit absteigenden Werten, während die komplizierten Fälle einen weiteren postoperativen Anstieg oder einen ausbleibenden Abfall des CRPs zeigten [50].

Boeken et al. zeigten, dass ein isoliert präoperativ erhöhter CRP Wert ohne Anzeichen einer Infektion ein prognostischer Wert für den postoperativen Ausgang nach kardialer Chirurgie mit kardiopulmonalem *bypass* ist. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zu solchen Patienten die präoperative CRP Werte im Referenzbereich aufwiesen. Patienten mit hohen CRP Werten zeigten signifikant häufiger septische Komplikationen, benötigten signifikant längere respiratorische Unterstützung und hatten einen signifikant längeren ICU Aufenthalt [49]. In einer weiteren humanmedizinischen Studie wurde die systemische Entzündungsreaktion nach koronarer Stentimplantation bei Patienten mit instabiler Angina pectoris durch die Messung verschiedener APP charakterisiert. Periphere Blutproben wurden 24h und 48h sowie 7 Tage nach erfolgreicher Koronarstentimplantation gewonnen und der Konzentrationsverlauf von CRP, α 2-Makroglobulin, Hp, AGP, Präalbumin und Alb bestimmt. Weiterhin wurden die proinflammatorischen Zytokine TNF, IL-6 und IL-8 sowie das antiinflammatorische Zytokin IL-10 evaluiert. Die koronare Angioplastie mit Stentimplantation verursachte eine systemische Entzündung mit Anstieg der Entzündungsmarker. CRP Level waren bereits vor der Intervention erhöht und stiegen nach der Intervention signifikant bis zum *peak* nach 48h. An Tag 7 fielen die CRP Werte und es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zu den basalen Leveln. Die Konzentrationen der Proteine Hp, AGP und C3 stiegen signifikant nach der Intervention an, blieben bis zum Tag 7 erhöht und zeigten dort

Maximumkonzentrationen. Das einzige Zytokin, das signifikant anstieg, war IL-6. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen den Konzentrationen von CRP und IL-6 [411]. Bei der Interpretation der Ergebnisse der Studie muss beachtet werden, dass humane Artherosklerose, deren Therapie in einer koronaren Angioplasty besteht, im Gegensatz zu den hier untersuchten kongenitalen Erkrankungen des Hundes, eine entzündliche Erkrankung ist. Die Entzündung sorgt sowohl für die Initiierung als auch für die Progression der Erkrankung. Hohe Konzentrationen der APP korrelieren *per se* mit einer schlechten Prognose.

Allerdings finden sich in der humanmedizinischen Literatur nur wenig Informationen über den Verlauf der APP nach Herzkatheterintervention zur Therapie von kongenitalen Herzerkrankungen. Kinder, bei denen eine Homograft Herzchirurgie aufgrund kongenitaler Herzdefekte durchgeführt wurde, zeigten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe gleichaltriger Kinder, bei denen eine offene Herz-OP ohne Einsatz eines Implantates vollzogen wurde, signifikant höhere CRP Werte. Diese APR zeigt eine Inflammationsreaktion aufgrund des Fremdmaterials an [26]. Ob dieses auch in der Tiermedizin auf die Implantation von synthetischem Fremdmaterial wie ACDO übertragen werden kann, ist unklar. In einer weiteren humanmedizinischen Studie wurde die Entzündungsreaktion nach kardiopulmonalem *bypass* bei Kindern mit chirurgischer Korrektur angeborener Herzerkrankungen gemessen. Blutproben wurden zwei Tage vor dem Eingriff sowie 6h, 9h, 12h, 24h, 48 h und 120h nach dem Eingriff untersucht und die Konzentrationen von CRP, Alb, Cp, Zink und Kupfer bestimmt. CRP Konzentrationen stiegen 12h nach kardiopulmonalem *bypass* an und zeigten *peak*-Werte von 100mg/l nach 48h. Diese waren signifikant höher als die präoperativen Werte. Innerhalb von fünf Tagen fielen die Werte wieder in den Referenzbereich. Die Daten zeigen, dass sich die APR nach kardiopulmonalem *bypass* bei Kindern nur subtil von der APR beim Erwachsenen unterscheidet. Insgesamt zeigen sich weniger starke Veränderungen. Die reduzierte Reaktion von Kindern im Vergleich zum Erwachsenen wurde nicht durch den Stimulus an sich sondern eher durch die Möglichkeit des Kindes zu reagieren erklärt. Kinder können im Vergleich zu Erwachsenen eingeschränkter Proteine wie z.B. CRP synthetisieren [330]. Auch in unserer Studienpopulation handelt es sich überwiegend um junge Tiere. Für den Hund wurden keine Studien veröffentlicht, in denen altersabhängige Unterschiede in der APP Produktion bei Tieren die älter als drei Monate sind nachgewiesen wurden [182, 182, 270, 271, 516, 521]. In der Studie von Nguyen-Vermillon et al. wurde der perioperative Verlauf von CRP bei Neonaten untersucht, die einer Thorax- oder Abdomenchirurgie unterzogen wurden. In der Abwesenheit einer Infektion stieg CRP nach Chirurgie an und erreichte an Tag 2 *peak*-Konzentrationen. Der chirurgische Eingriff alleine verursachte bei

24% der untersuchten Kinder keinen Anstieg des CRPs. Bei den Thoraxchirurgien zeigte die PDA Ligation den schwächsten Anstieg des CRPs. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass serielle Messungen informativer als eine Einzelmessung des CRPs sind. Die Proben wurden vor dem chirurgischen Eingriff sowie an Tag 1, 2 und 3 postoperativ entnommen. 55 Patienten wurden inkludiert wovon einer der Patienten eine postoperative Infektion zeigte. Bei diesem Patienten entwickelte sich nach PDA-Verschluss eine *Pseudomonas*-Tracheitis. Dieser Patient zeigte eine deutliche Erhöhung des CRPs. Zwei Patienten (Zwillinge) mit PDA Ligation entwickelten eine Woche post OP eine intestinale Perforation, einer von ihnen verstarb. Die CRP Level lagen zwischen Tag 1 bis 3 postoperativ bei $<0,8$ mg/l und die ersten Tage nach Operation verliefen unauffällig. Die Autoren schlussfolgerten, dass das Ausmaß und der Zeitverlauf der perioperativen CRP Konzentrationen je nach Diagnose unterschiedlich sind [356].

Obwohl in beiden Studien serielle CRP Konzentrationsbestimmungen nach der Therapie eines PDAs durchgeführt wurden, sind die Ergebnisse nicht mit der vorliegenden Arbeit zu vergleichen, da keine minimalinvasive Methode durchgeführt wurde. Jiang et al. untersuchten Myokardverletzung und Entzündungsreaktion innerhalb von sieben Tagen nach interventioneller Therapie angeborener Herzerkrankungen (PS, PDA, Ventrikelseptumdefekt, Atriumseptumdefekt) beim Menschen. Neben der Konzentration der myokardialen Enzyme und Troponin I wurde auch die CRP Konzentration bestimmt. Die Probenentnahmenzeitpunkte waren vor der Operation, direkt und 6h, 24h, 72h sowie 7 Tage danach. Die CRP Konzentrationen waren in der PDA Gruppe zum ZP 72h und sieben Tage nach der Operation signifikant höher als bei den anderen Erkrankungen. Erhöhte CRP Werte zeigten sich bei der PDA Gruppe weiterhin 24h und 72h sowie sieben Tage nach der Operation. Die Autoren kamen zu der Schlussfolgerung, dass ein kleiner myokardialer Schaden innerhalb von sieben Tagen nach interventioneller Therapie bei Kindern mit kongenitaler Herzerkrankung beobachtet werden kann. Eine signifikante Entzündungsreaktion wurde nicht beobachtet [220]. Allerdings können humane Ergebnisse nicht vollständig auf den Hund übertragen werden. PS sowie der Konzentrationsverlauf anderer APP wurden nicht untersucht.

Beim Hund wurden erhöhte Serum CRP Konzentrationen bei Hunden mit erworbener Herzerkrankung dokumentiert [388, 409], das APP gilt aber nicht als sensitiver Biomarker für die Evaluation der myxomatösen degenerativen Mitralklappenerkrankung [284]. In einer ganz aktuellen Studie von 2015 wurde der Zeitverlauf der Konzentrationen pro- und antiinflammatorischer Zytokine (IL-6, IL-10, TNF- α) sowie der Entzündungsparameter Wbc und CRP vor, während und nach kardiopulmonalem Bypass beim Hund untersucht. Elf Hunde erhielten eine Mitralklappenreparatur mittels

kardiopulmonalem Bypass und sieben gesunde Hunde, die einer Ovariohysterektomie unterzogen wurden, galten als Kontrollgruppe. Plasmalevel von IL-6, Wbc und CRP waren nach dem kardiopulmonalen Bypass signifikant höher als vorher und IL-6 Konzentrationen signifikant höher als in der Kontrollgruppe. CRP stieg ab drei h nach Eingriff bis zum Ende der Studie nach 48h [332].

Bezüglich der APP Konzentrationen nach interventionellem Kathetereingriff angeborener Herzerkrankungen beim Hund liegen in der Literatur nur sehr wenige Angaben vor und beziehen sich nur auf die PS [415]. Serielle Untersuchungen und Daten bezüglich der Inflammationsreaktion zum PDA liegen nicht vor.

Es existiert lediglich eine Studie, die Veränderungen in der kardialen Troponin I Konzentration im Rahmen von kardiovaskulären Kathetereingriffen untersuchte. Hier wurde bei Hunden mit einer Coilembolisation eines PDAs, einer Ballonvalvuloplastie und einer Schrittmacherimplantation sowie Kontrolltieren mit einer Ovariohysterektomie vor dem jeweiligen Eingriff sowie nach 5h, 24h und 10 Tagen nach Eingriff Troponin I bestimmt. Vor dem Eingriff zeigte sich kein signifikanter Unterschied in den Troponin I Konzentrationen der einzelnen Gruppen. Nach der BD und der Schrittmacherimplantation, aber nicht beim PDA, zeigte sich 5h und 24h nach dem Eingriff ein signifikanter Anstieg der Troponin I Konzentrationen. Hunde mit längerer Operationsdauer hatten signifikant höhere Troponin I Konzentrationen. Es zeigte sich keine Korrelation zwischen dem Schweregrad des Prozedere oder den perioperativen Komplikationen und der Troponin I Konzentration. Innerhalb von 24h bis 240h lagen die Troponin I Werte wieder im Referenzbereich [432].

4.2.4.2.1 C-reaktives Protein

CRP wurde bei vielen pathologischen Prozessen beim Hund bestimmt und es korreliert oft mit der Schwere der Erkrankung [82, 306, 352, 399, 516, 524]. Der Anstieg der CRP (und Hp) Konzentration korreliert nach einem chirurgischen Eingriff mit dem Ausmaß des Traumas [95]. In der Humanmedizin zeigte sich weiterhin, dass präoperativ erhöhte APP Konzentrationen negativ mit postoperativen Infektionen korrelieren [82]. CRP wird sowohl in der Human- als auch Veterinärmedizin zum *Therapiemonitoring* und zur Überwachung des postoperativen Heilungsverlaufs bei verschiedenen Erkrankungen genutzt.

Die serielle Bestimmung der CRP Konzentration stellt einen objektiven Parameter zur Beurteilung der Wundheilung (komplikationslose Wundheilung versus postoperative Wundheilungsstörungen) beim Hund dar. Unverändert hohe CRP Konzentrationen oder ein Wiederanstieg der postoperativen CRP

Konzentrationen konnten eine fortbestehende bzw. aufflammende Entzündung im Rahmen von Wundinfektionen, Nahtdehiszenzen, Seromen, Hämatomen und Reizzuständen anzeigen [254]. Bei Tieren mit chirurgischen Eingriffen ohne Komplikationen zeigte sich zum ZP des Fädenziehens häufig noch eine Leukozytose, während die CRP Konzentration schon im Referenzbereich lag, sodass sich CRP besser zum postoperativen *monitoring* eignet als Wbc [82, 95]. Serielle Messungen der CRP Konzentrationen bei Hunden mit experimentell induzierter bakterieller Zystitis zeigen, dass CRP als diagnostischer und therapeutischer Marker geeignet ist. Die CRP Konzentrationen sanken in der behandelten Gruppe im Vergleich zu den unbehandelten Tieren signifikant und die CRP Level korrelierten mit den Leukozytenzahlen im Urin sowie der Urinkultur [428].

Ziel unserer Studie war es, den Verlauf der APP im Rahmen des Herzkatheteringriffs bei kongenitalen Herzerkrankungen zu evaluieren. Betrachtet man den Verlauf der CRP Konzentration in der vorliegenden Studienpopulation, zeigt sich, dass nach einem Kathetereingriff eine systemische Entzündungsreaktion stattfindet. Diese ist nur ggr. ausgeprägt und unterscheidet sich nicht signifikant zwischen Patienten mit PS und PDA oder zwischen solchen mit und ohne Komplikationen. Nachdem *peak*-Konzentrationen bereits an Tag 1 nach dem Eingriff erreicht sind, sinken die CRP Konzentrationen rapide und konstant innerhalb weniger Tage wieder in den Referenzbereich ab.

Die fehlende signifikante Veränderung zwischen den Patienten mit und ohne Komplikationen lässt sich dadurch erklären, dass keine systemischen Komplikationen aufgetreten sind. Da sich keine schwerwiegenden Komplikationen, wie infizierte Implantate oder Sepsis, in unserer Studienpopulation ereigneten, kann keine definitive Aussage über den Verlauf des CRPs in diesen Situationen getroffen werden. Es ist aber davon auszugehen, dass der kontinuierliche Abfall der CRP Konzentrationen ab Tag 2 post Kathetereingriff wie er bei unserer Studienpopulation zu beobachten ist, ausbleiben würde. Ein ausbleibender Abfall der Konzentrationen innerhalb weniger Tage post Katheterintervention, ein erneuter Anstieg der Werte oder ein mehr als 25-facher Anstieg der Konzentrationen sollte Anlass dazu geben, nach schwerwiegenderen Komplikationen oder entzündlichen Komponenten zu suchen. Eine antibiotische Therapie sollte, wie oben beschrieben, in diesen Fällen nicht unterbrochen werden.

Martinez-Subiela et al. untersuchten 2003 die kritischen Differenzwerte verschiedener APP indem diese bei elf gesunden Hunden fünf Wochen lang einmal wöchentlich gemessen wurden. Der kritische Differenzwert des CRP lag bei 4,85 µg/ml, der von Hp bei 1,95 g/l. [305]. Auch Carney et al. untersuchten die inter- und intraindividuellen Variationen über die Zeit sowie die minimale kritische Differenz bei seriellen Messungen der CRP Konzentrationen, d.h. die kleinste Veränderung die

notwendig ist um eine physiologische Veränderung und nicht eine biologische Variation anzuzeigen. Auch sie kamen zu dem Schluss, dass kleine Veränderungen der CRP Konzentrationen im Rahmen serieller Messungen aussagekräftiger sind als ein populationsbasierter Referenzbereich. Ein mindestens zweifacher Anstieg der CRP Konzentration bei seriellen Messungen wurde als Veränderung und nicht als biologische Variabilität interpretiert [71]. Diese Kriterien erfüllt der Anstieg des CRPs nach Katheterintervention sowohl des PDAs als auch der PS, sodass von einer realen systemischen APR auszugehen ist.

Das ideale APP zeigt einen starken Anstieg in Relation zum Schweregrad der Entzündung. Es steigt idealerweise im Plasma schnell nach dem Insult an, bleibt für eine ausreichende Zeitspanne erhöht und fällt in Reaktion zur Therapie wieder ab. Es kann weiterhin einfach und billig bestimmt werden. Im Rahmen dieser Studie scheint CRP die Kriterien am besten zu erfüllen.

Was genau die Entzündungsreaktion auslöst, kann durch die vorliegende Untersuchung nicht beantwortet werden. In der Humanmedizin wurden erhöhte Entzündungsmarker auch bei Patienten nachgewiesen, die lediglich einer koronaren Angiographie unterzogen wurden [1, 411]. Sowohl die Patienten mit PDA als auch PS erhielten eine Angiographie, was potentiell auch beim Hund eine APR auslösen könnte. Sowohl durch das Legen der Schleusen, das Schieben der Katheter als auch das Implantieren des *device* als Fremdmaterial im Körper bzw. das Ballondilatieren der fusionierten Pulmonalklappe, das zu Verletzungen der Pulmonalklappen, Rissbildung und Klappenödem führen kann, könnte es zu inflammatorischen Reaktionen gekommen sein.

Sowohl in der Gruppe der PDA-c als auch der PDA-u zeigte jeweils ein Hund abweichend hohe CRP Konzentrationen, was vor allem zum ZP t_2 und t_3 ausgeprägt ist. Am Ende des Beobachtungszeitraums weisen auch diese beiden Tiere CRP Konzentrationen im Referenzbereich auf. Bei beiden Tieren handelt es sich um dekompenzierte PDAs, wobei der Hund aus der Gruppe der PDA-c nicht nur radiologische sondern auch klinische Hinweise und Folgeerscheinungen aufwies. Im Hintergrund dieser Ergebnisse wäre es ggf. sinnvoll gewesen auch Hunde mit lediglich bildgeberischen Hinweisen auf Dekompensation ohne Folgeerscheinungen in die Gruppe der PDA-c aufzunehmen.

Saunders et al. untersuchten 2009 die Entzündungsreaktion nach BD von PS mittels der CRP Konzentrationsbestimmung und das Ausmaß des myokardialen Schadens mittels Bestimmung der Konzentration des Troponin I. Patienten mit PDA sowie hämatologische Parameter oder serielle Messungen wurden nicht betrachtet. Es gingen 23 Hunde in die Studie ein und die CRP Konzentration wurde einmalig 18h bis 24h post OP bei 16 Tieren bestimmt. Die Basalkonzentrationen des CRP

waren bei 34,8% der Hunde erhöht. Mediane Basalkonzentrationen und post BD CRP Werte waren bei 3,4 µg/ml (*range* 0 bis 14,7 µg/ml) bzw. 11,7 µg/ml (*range* 4,2 bis 120 µg/ml), sodass sich nach dem Eingriff eine signifikante Erhöhung ergab. Es zeigte sich also in der Studie von Saunders et al. ein 3,35-facher Anstieg des CRPs. Weiterhin zeigten 2/16 Hunden gar keinen Anstieg des CRPs [415].

Die in unserer Studie gemessenen CRP Konzentrationen lagen bei den PS-u basal im Median bei 2,1 mg/l bzw. bei den PS-c bei 1,65 mg/l und zum ZP t_1 bei 46,1 bzw. 25,3 mg/l. Entsprechend ergab sich ein 21,95 bzw. 15,33-facher Anstieg der medianen CRP Konzentrationen. Die CRP Messung erfolgte bei Saunders et al. mittels ELISA und im Vergleich zu unserer Studie mit anderen Referenzwerten. Unabhängig von den Zahlenwerten zeigt sich aber in dieser Studie auch ein niedrigerer prozentualer Anstieg der CRP Konzentration. Die APR ist in unserer Studie intensiver als bisher in der Literatur angegeben. Ursachen können in der Studienpopulation, an präanalytischen Gegebenheiten sowie am Eingriff an sich liegen. Bei Saunders et al. [415] wurde der Katheter via rechter Jugularvene und nicht wie bei uns über die rechte Vena femoralis vorgeschoben. Bei Saunders et al. korrelierten die post-Katheter CRP Werte positiv mit der Anästhesiezeit. Diese wurde in unserer Studie nicht in die Auswertung miteinbezogen, könnte aber eine Erklärung für die höheren CRP Konzentrationen sein. Der Einfluss einer Narkose mit und ohne nachfolgendem chirurgischen Eingriff (Ovariohysterektomie) auf die Dynamik des CRP Konzentrationsverlaufs wurde bereits geprüft. Durch Narkose alleine wird keine signifikante Erhöhung der CRP Werte erzielt [63]. Auch in einer weiteren Studie ergaben zwei verschiedene Anästhesieprotokolle keinen signifikanten Unterschied bezüglich der CRP Konzentrationen nach einer Kastration [414]. Außer Diazepam wurde keines der in unserer Studie verwendeten Anästhetika evaluiert, aber es erscheint unwahrscheinlich, dass die Anästhesiemedikamente einen Einfluss auf die CRP Konzentration ausüben. Eine längere Anästhesiedauer könnte Einfluss durch verstärkte Hypothermie haben oder gleichzusetzen sein mit Schwierigkeiten innerhalb des Eingriffs wie beispielsweise beim Legen der Schleuse, Dilatieren des Ballons etc. Laut Shih et al. hatten Hunde, bei denen ein kardiovaskulärer Kathetereingriff durchgeführt wurde, bei längerer Katheterdauer ein erhöhtes Risiko für eine Myokardverletzung. Dies stand aber nicht mit der Kurzzeitprognose in Zusammenhang [432].

Es ist weiterhin möglich, dass bei einer einmaligen Messung 18h bis 24h nach dem Kathetereingriff bei Saunders et al. die *peak*-Konzentrationen verpasst wurden. Bei beiden Studien wurden wenige Patienten untersucht, sodass eine abschließende Einschätzung nicht getroffen werden kann.

Weiterhin auffällig in der Studienpopulation von Saunders et al. im Vergleich zu unserer eigenen ist, dass bereits 34,8% der Hunde vor dem Eingriff CRP Konzentrationen oberhalb des Referenzbereichs

aufwiesen. Dieses stellt in unserer Klinik ein Ausschlusskriterium zur Durchführung des Kathetereingriffs dar, da andere als die Grunderkrankung zugrundeliegende entzündliche Erkrankungen nicht ausgeschlossen werden können. Saunders berichtete, dass basale CRP Konzentrationen zum ZP der Vorstellung signifikant unterschiedlich bei Hunden mit und ohne klinischen Symptomen aber nicht mit Alter, Gewicht oder Druckgradient über der Pulmonalklappe korreliert waren. Auch wenn eine hohe CRP Konzentration Ausschlusskriterium zur Teilnahme an dieser Studie waren, kann aus Erfahrung gesagt werden, dass an unserer Klinik wenig Hunde mit PS oder PDA mit basal erhöhten CRP Konzentrationen vorgestellt werden und kein einziger potentieller Studienteilnehmer aufgrund dieses Kriteriums excludiert wurde. Es ist unwahrscheinlich, dass Saunders et al. Patienten mit höhergradigen Befunden der Grunderkrankung vorgestellt wurden, da es sich bei beiden Studienpopulationen um vorselektiertes Patientengut handelt und nur bei mgr. bis hgr. betroffenen Tieren überhaupt eine Katheterintervention durchgeführt wird. Es wäre interessant bei einer größeren Anzahl von Patienten mit PS basale CRP Konzentrationen zu untersuchen. Es besteht in der Humanmedizin ein Zusammenhang zwischen Erfolg einer perkutanen Ballon Mitralklappenkommissurotomie bei Patienten mit rheumatischer Mitralklappenstenose und den CRP Konzentrationen. Ein Erfolg wurde bei 89% der Patienten mit nicht detektierbarem CRP und bei nur 67% der Patienten mit detektierbarem CRP verzeichnet. Persistierende Inflammation beeinflusst also den Erfolg des Prozedere [263]. In der vorliegenden Studie wurde der Erfolg des Kathetereingriffs nicht ausgewertet. Basierend auf den humanmedizinischen Daten könnte dies aber für zukünftige Studien auch beim Hund interessant sein. Weiterhin interessant wäre die Fragestellung ob aufgrund der pathophysiologischen Vorgänge bereits initial Inflammationszustände vorliegen. Dies ist interessant, da auf der einen Seite bei myokardialer Hypertrophie und *Remodelling*vorgängen, wie sie bei PS vorkommen, durch inflammatorische Zytokine die Nekrose der Myozyten getriggert wird und auf der anderen Seite- zumindest in der Humanmedizin- IL-6 eine myokardiale Hypertrophie induziert. Bei PS kommt es zu einer exzessiven Druckbelastung des rechten Ventrikels. Die daraus folgende myokardiale Hypertrophie erzeugt strukturelle und biochemische Veränderungen der kontraktilen Proteine und Myozyten. Durch ein *remodelling* entstehen verschiedene strukturelle Veränderungen wie reduzierte Kapillardichte im Subendokard und Nekrose der Myozyten. Die Apoptose der Myozyten kann durch sowohl neurohormonelle Mediatoren als auch inflammatorische Zytokine ausgelöst werden [92, 226, 415].

Unter diesem Gesichtspunkt können auch die erhöhten CRP Konzentrationen des Patienten mit dekompensierten PDAs diskutiert werden.

Eine Imbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Mediatoren trägt zum CHF bei. Für den Menschen wurde gezeigt, dass beim CHF neuroendokrine Mediatoren und inflammatorische Zytokine den Verlauf des *remodellings* verstärken, indem sie zur Nekrose kardialer Myozyten führen. Inflammation und hohe CRP Konzentrationen sind mit dem ventrikulären *Remodelling*prozess unabhängig von der linksventrikulären systolischen Funktion verbunden [23].

Entzündungsreaktionen sind in der Humanmedizin mit einer Verschlechterung des Herzversagens assoziiert: Erhöhte CRP Werte gehen mit höheren Raten von Krankenhaus-Wiedervorstellung und Mortalität einher. Patienten, die einen kardialen Tod oder einen Krankenhausaufenthalt wegen sich verschlechterndem Herzversagen erleiden, zeigen höhere Konzentrationen von BNP, Norepinephrin und CRP. Erhöhte Fb und CRP Level kommen bei Patienten mit kongestivem Herzversagen vor, wobei keine Unterschiede bezüglich der Ätiologie des Herzversagens festzustellen waren. Kapadia et al. zeigten, dass die Konzentration von TNF- α bei Patienten mit hämodynamisch relevantem Druck und Volumenüberladung (Mitralklappeninsuffizienz und AS) sowie früher kardialer Dekompensation erhöht ist. Die peripheren TNF- α Konzentrationen sowie TNF- α Rezeptor Konzentrationen korrelieren mit dem Schweregrad der hämodynamischen Drucküberlastung und der sich verschlechternden NYHA Klasse [228]. Gennaro et al. fanden heraus, dass Entzündungsmarker (CRP, Fb, BSG) bei Patienten mit nicht ischämischer DCM proportional zum Schweregrad der Symptome und der systolischen Beeinträchtigung erhöht sind. Auch erhöhte Level an TNF- α und IL-6 können die linksventrikuläre Funktion signifikant beeinflussen. Systemische Entzündung trägt zur Verschlechterung der NYHA Klasse bei Patienten mit nichtischämischer DCM bei. Patienten mit kongenitalen Malformationen wurden in der betreffenden Studie allerdings ausgeschlossen [160]. Es ist weithin anerkannt, dass eine Entzündungsreaktion eine Schlüsselrolle bei der Entstehung von Herzversagen spielt. Das unterstreicht auch die veterinärmedizinische Studie von Funayama et al. Hier wurden die CRP Konzentration bei Hunden mit Mitralklappenregurgitation evaluiert, die einer chirurgischen Mitralklappenoperation unterzogen wurden. Plasma CRP Werte und Wbc wurden vor und nach der Operation bestimmt und die Hunde in ISACHC Klassifikation eingeteilt. Es wurden 44 Hunde untersucht, elf von ihnen litten an einem Lungenödem. Es wurden keine signifikanten Veränderungen der CRP Werte bezüglich Alter und Körpergewicht gefunden. Vor der Operation waren die Konzentrationen von CRP und Wbc bei Hunden in der ISACHC Klasse 3b höher als bei Hunden der Klassen 1b, 2 und 3a. Zusätzlich fielen die CRP Konzentrationen und Wbc der Hunde in Klasse 3b nach der Operation im Vergleich zu den präoperativen Werten signifikant ab. Die CRP und Wbc Konzentrationen waren bei den Hunden mit Lungenödem signifikant höher als bei denen ohne

Lungenödem. Drei Monate nach dem chirurgischen Eingriff war das Lungenödem verschwunden und sowohl die Konzentrationen von CRP als auch Wbc lagen im Referenzbereich. Zusammenfassend ist zu sagen dass CRP Konzentrationen bei Hunden mit Mitralklappenregurgitation und kardiogenem Lungenödem erhöht sind [150].

Oxidativer Stress und Entzündung sind in die Pathogenese des Herzversagens beim Hund involviert. Eine Therapie mit dem antioxidativen und antiinflammatorischen Medikament Probucol vermindert den myokardialen oxidativen Stress und die Entzündung und schwächt beim Hund die Progression der linksventrikulären Dysfunktion und des *remodellings*/der Dilatation in einem Tachykardie-induzierten Herzversagen ab. Entzündliche Erkrankungen, die eine abnormale Interaktion zwischen geschwächtem Myokard und aktivierten Monozyten verursachen, spielen eine bedeutende Rolle in der kaninen Progression des Herzversagens [349].

Die höheren Konzentrationen des CRPs bei dem Patienten mit Herzversagen aufgrund des dekompensierten PDAs passen also zu den in der Literatur beschriebenen Vorgängen und die Entzündungsreaktion kann die kardiale Funktion noch weiter beeinträchtigen. Der Patient zeigte als Folgeerscheinung der dekompensierten Grunderkrankung Vorhofflimmern. In der Humanmedizin ist bekannt, dass Inflammation eine Rolle in der Pathogenese des Vorhofflimmerns spielt. Vorhofflimmern wird durch strukturelle und elektrophysiologische Veränderungen in den Atrien induziert und durch Inflammation hervorgerufen. Histopathologisch zeigt sich bei Patienten mit Vorhofflimmern infolge schwerer Mitralklappenerkrankung und moderater bis schwerer Trikuspidalklappenerkrankung ohne Koronarerkrankung eine signifikant höhere Anzahl an Entzündungszellen (CD45 positive Zellen) im rechten atrialen Myokard verglichen mit einer Kontrollgruppe von Patienten ohne Vorhofflimmern. Die Entzündungszellinfiltration ist bei Patienten mit Vorhofflimmern im atrialen Myokard also erhöht [88]. CRP Konzentrationen sind bei Patienten mit Vorhofflimmern nicht nur erhöht, sie sind bei Patienten mit persistierendem Vorhofflimmern auch höher als bei solchen mit paroxysmalem Vorhofflimmern. Die Assoziation zwischen den CRP Werten und dem Wiederkehren des Vorhofflimmerns nach erfolgreicher elektrischer Kardioversion zeigte, dass höhere CRP Konzentrationen bei Patienten vorkommen, die nicht dauerhaft im Sinusrhythmus verblieben. Ähnliche Assoziationen ergaben sich bei Patienten mit paroxysmalem Vorhofflimmern nach pharmakologischer Kardioversion [91, 260]. Die erhöhten CRP Konzentrationen könnten einen Entzündungsstatus reflektieren, der die Persistenz vom Vorhofflimmern begünstigt. Eine Entzündung interferiert wie beschrieben mit den strukturellen und elektrischen Eigenschaften des atrialen Myokards. Die Autoren spekulierten, dass das frühe Wiederkehren des Vorhofflimmerns

mit einer transienten Entzündungsreaktion durch die Myokardverletzung zusammenhängt [260]. CRP Plasmalevel sind auch mit dem Vorkommen von Vorhofflimmern bei Patienten mit Mitralklappenstenose assoziiert [424, 468]. Statin moduliert und reduziert CRP Level. In einer Studie von Kumagai et al. wurde gezeigt, dass im kaninen sterilen Perikarditis-Modell Atorvastatin der Aufrechterhaltung von Vorhofflimmern durch Inhibition der Entzündung vorbeugen kann [266]. Medikamente mit antiinflammatorischen Effekten wie Statine oder Kortikosteroide wurden auch in der Humanmedizin erfolgreich zur Prävention von primärem und sekundärem Vorhofflimmern eingesetzt.

Es ist also mit den Erkenntnissen in der Literatur in Einklang zu bringen, dass der einzige Patient der Studie, der unter Vorhofflimmern litt, deutlich höhere CRP Konzentrationen aufwies als die anderen Tiere. Limitierend ist die Tatsache, dass es sich nur um einen Patienten handelt. Um eine definitive Aussage über CRP Konzentrationen bei kaninen Patienten mit Vorhofflimmern treffen zu können, müsste eine größere Gruppe untersucht werden. Dieses ist von Relevanz, da beim PDA Vorhofflimmern und CHF zum ZP der initialen Vorstellung als negativ prognostisches Zeichen gewertet wird [60, 168, 442, 476].

4.2.4.2.2 Haptoglobin

Da es sich bei Hp um ein moderates APP handelt, erfolgt der Konzentrationsanstieg langsamer und weniger rapid als beim CRP. Einige Gruppen haben zum Ende des Studienzeitraums die Ausgangskonzentrationen noch nicht erreicht. Anders als bei CRP wird beim Hp der Referenzbereich nicht deutlich überschritten. Der von Martinez-Subiela et al. errechnete kritische Differenzwert von Hp lag bei 1,95 g/l [305]. Auch dieser Wert wurde nur von der Hälfte der Tiere (PDA-u: 3, PDA-c: 3, PS-u:1, pS-c:3) überschritten.

Anders als beim CRP ergeben sich für Hp auch signifikante Veränderungen bei Zeitverlauf und Gruppe sowie bei gemeinsamer Betrachtung von Zeitverlauf, Gruppe und Komplikationen. Die Hunde mit PS-u weisen höhere mediane Ausgangskonzentrationen auf als die anderen Gruppen und zeigen nach Kathetereingriff sogar erst einen Abfall der Werte bevor sie als Ausdruck der APR kurzfristig ansteigen. Subklinische Entzündungen als Erklärung für dieses Phänomen erscheinen unwahrscheinlich, da die anderen APP sowie die klassischen Entzündungsparameter initial keine höheren Konzentrationen in der Gruppe der PS-u aufweisen. Von Ursachen, die durch die Grunderkrankung erklärt werden, ist ebenfalls nicht auszugehen, da die Probanden mit PS-c initial ebenso niedrige Hp Konzentrationen aufweisen wie die Hunde mit PDA.

Die statistisch detektierten Signifikanzen in Bezug auf Gruppe und Komplikationen zeigen keine klinische Relevanz.

Auch beim Hp ist der Hund mit den abweichend hohen Konzentrationen in der Gruppe der PDA-c der Hund mit der massiven Dekompensation. Es gilt das gleiche wie weiter oben diskutiert. Auch in der Gruppe der PS-u zeigt ein Patient höhere Hp Konzentrationen als die anderen Tiere seiner Gruppe. Es handelt sich hier entweder um eine subklinische, durch die klinische Untersuchung nicht detektierbare Entzündung oder aber um eine individuelle Schwankung. Die Hp Konzentrationen liegen insgesamt und bereits initial höher als bei den anderen Tieren. Es kommt nicht zu einem deutlicheren Anstieg der Hp Konzentrationen im Rahmen der Katheterintervention.

Nach Wissen der Autorin ist dieses die erste Studie, in der die Hp Konzentrationen bei Hunden mit PS und PDA sowie nach Herzkathetereingriff bestimmt wurden. Im Vergleich zum CRP ist Hp in der Detektion der systemischen APR, die nach Herzkathetereingriff zur Therapie kongenitaler Erkrankungen beim Hund erfolgt, weniger sensitiv und schlechter zum Therapiemonitoring geeignet als das *major* APP.

Bei der Interpretation des Hp Konzentrationsverlaufs ist zu bedenken, dass Hämolyse zu niedrigen Hp Konzentrationen führt, da das aus den Erythrozyten freigesetzte Hb an Hp bindet und dieses sättigt. Die Hp-Hb-Komplexe werden via CD163 durch Makrophagen aus der Zirkulation entfernt und in der Leber metabolisiert. Das bedeutet, dass selbst wenn die Hp Produktion durch eine Inflamationsreaktion stimuliert wurde, dieses so schnell aus der Zirkulation befreit wird, dass dessen Konzentrationsanstieg nicht messbar ist [96, 128, 181, 383]. Dies kann in Zusammenhang mit der potentiellen Komplikation der Hämolyse nach interventioneller Therapie des PDAs relevant werden. Für die Humanmedizin ist bekannt, dass Fremdmaterial in Zusammenhang mit lokalisierter intrakardialer Turbulenz schwere Hämolysen verursachen kann. Eine wichtige Komplikation nach dem interventionellen Verschluss eines PDA ist eine intravaskuläre Hämolyse. Die schwere Form entsteht beim Menschen in 0,5% bis 0,66% der Fälle. Schon 1968 wurde Hp als Indikator chronischer Hämolyse vor und nach operativer Korrektur von Herzfehlern eingesetzt [470]. In einer humanmedizinischen Studie wurde die Inzidenz von milder und subklinischer intravaskulärer Hämolyse nach interventionellem Verschluss eines PDAs mittels *Rashkind* Doppelschirm oder *coils* untersucht. Bei der Hälfte der Fälle gab es Hinweise auf eine milde, subklinische intravaskuläre Hämolyse obwohl keiner der Patienten eine akute intravaskuläre Hämolyse entwickelte. Fragmentozyten und Sphärozyten wurden in 1/3 der Blutausstriche gefunden, es zeigte sich kein Unterschied zwischen Patienten mit und ohne Restshunt. Kein Patient zeigte erhöhte

Retikulozytenzahlen. Hypohaptoglobinämie lag bei 9% bis 13% der Patienten mit Restshunt und bei 9% bis 23% der Patienten mit einem vollständigen Verschluss vor [211]. Schwere mechanische hämolytische Anämien mit entsprechend erniedrigten Haptoglobinwerten und Fragmentozyten im peripheren Blut wurden beim Menschen nach chirurgischer Intervention von Atriumseptumdefekt und *cleft* Mitralklappe beobachtet [7]. In unserer Studienpopulation zeigte keiner der Hunde mit PDA eine Hämolyse als Komplikation, sodass dieser Aspekt in der Studie nicht abschließend bewertet werden kann. Es ist aber davon auszugehen, dass Hp ein guter Parameter ist, um diese Komplikation anzuzeigen und zu *monitoren*. Finden sich bei einem Patienten nach interventioneller Therapie eines PDAs niedrigere HP Konzentrationen als in dieser Studie nachgewiesen, sollte mittels weiterer Diagnostik, wie beispielsweise der Evaluierung eines Blutausstriches auf Fragmentozyten oder in der Urinuntersuchung auf Hb, nach einer Hämolyse gesucht werden.

Smeets et al. zeigten 2003 beim Kaninchen, dass Hp nach BD von Arterien im Rahmen von arterieller Umstrukturierung auch extrahepatisch produziert wird. Die arterielle Hp Expression wurde bei Kaninchen 0, 2, 7, 14 und 28 Tage nach BD untersucht. Arterielle Hp mRNA und Proteinlevel waren nach der BD erhöht, wohingegen die hepatische Hp Expression konstant blieb. Es zeigten sich auch unterschiedliche Glykolysierungen. Hp wird also in der Adventitia der ballondilatierten Kaninchenarterien exprimiert, was auch für humane arteriosklerotische Läsionen bestätigt wurde [438]. Ob es auch zu einer lokalen Expression von Hp nach BD der PS beim Hund kommt, ist unklar.

4.2.4.2.3 α 1-saures-Glykoprotein

Es existieren bisher keine Informationen über Konzentrationen des APP AGP bei Hunden mit kongenitaler Herzerkrankung oder über den Verlauf nach deren Therapie. Überhaupt finden sich in der Literatur kaum veterinärmedizinische Daten über AGP bei Herz- oder Gefäßerkrankungen des Hundes. In einer veterinärmedizinischen Studie zeigte sich, dass die Konzentrationen von AGP und CRP bei experimentell induzierten Thrombophlebitiden ansteigen, die AGP Konzentration sogar noch höher als es für den Menschen beschrieben ist [153].

Auch das *moderate* APP AGP zeigt einen im Vergleich zum CRP langsameren und weniger drastischen Konzentrationsanstieg. Auch hier werden wie beim Hp zum Ende des Studienzeitraums die Ausgangskonzentrationen noch nicht erreicht. Der Referenzwert wird nur kurzfristig von einzelnen Tieren verschiedener Gruppen, aber nicht im Median überschritten. Die geringgradige APR zeigt sich nur bei Betrachtung des seriellen Verlaufs und nicht bei der Evaluierung von Einzelwerten.

Insgesamt weisen die Patienten mit PDA eine höhere AGP Konzentration auf als Patienten mit PS.

Auch beim AGP spiegeln die statistisch detektierten Signifikanzen in Bezug auf Zeit und Gruppe und Zeit und Komplikationen keine klinische Relevanz wider.

Erneut ist das Tier mit den Ausreißerwerten in der Gruppe der PDA-c der hgr. dekompensierte Hund. Das Tier mit den hohen Werten in der Gruppe der PS-c, das bereits zum ZP der Erstvorstellung AGP Konzentrationen oberhalb der Norm zeigte, wurde aufgrund einer Schwellung an der Punktionsstelle und einem Punktescore von 17 als kompliziert eingestuft. Das erklärt zwar die sehr hohen Konzentrationen zum ZP t_3 aber nicht die bereits initial hohen Werte.

Wie erwähnt kommt es durch AGP zu Bindung und Transport von zahlreichen basischen und neutralen lipophilen Medikamenten (z.B. Phenobarbital) [82, 142, 192, 205, 275]. So führt ein fünffacher AGP Anstieg zu einem 50%igen Abfall der ungebundenen Fraktion von Lincomycin, Propanolol und einem 10%igen Abfall von Quinidin [193, 204]. Das Ausmaß der AGP Medikamentenbindung ist speziesspezifisch und auch vom Ausmaß des Anstiegs im Rahmen einer APR abhängig. Beim Hund kommt zu einem 99%igen Abfall in der Bioverfügbarkeit von ungebundenem Chinidin (Antiarrhythmikum) bei einem erhöhten AGP Spiegel [204]. Weiterhin kommt es im Rahmen der kaninen Entzündung zu einem 6,1-fachen bzw. 5,8-fachen Abfall der ungebundenen Fraktion von Lincosamiden bzw. Clindamycin, während der Mensch nur einen 4,6-fachen bzw. 4-fachen Abfall zeigt [440]. Beim Hund kommt es beim Anstieg der AGP Konzentration im Rahmen einer APR zu einer Reduktion der freien Oxprenolol-Fraktion von 25% auf 6% [111]. Bei Mensch, Hund und Ratte werden die β -Blocker Oxprenolol und Propanolol hauptsächlich an AGP und nicht an Alb gebunden [38]. Es ist davon auszugehen, dass dies auch für den β -Blocker Atenolol gilt, den alle Hunde mit PS in dieser Studie erhalten haben.

Erhöhte AGP Konzentrationen im Rahmen der APR können also die Konzentration der freien Medikamente und somit die Pharmakokinetik beeinflussen. Disopyramid, das zur Therapie des Herzversagens als Antiarrhythmikum genutzt wird, bindet zu 90% an AGP. In einer humanmedizinischen Studie wurden die AGP Level und die Proteinbindung von Disopyramid in therapeutischen Konzentrationen bei Patienten mit chronischem Herzversagen getestet. Die Patienten mit kongenitalen Herzerkrankungen, Klappenerkrankungen und kongestiver Kardiomyopathie wurden hospitalisiert und die Konzentration von AGP, Alb und die freie Fraktion von Disopyramid bestimmt. Nach Therapie verbesserten sich die NYHA Klassen von vier auf drei. Als Reaktion auf die partielle Erholung fielen die AGP Konzentrationen signifikant und in der Folge kam es zu einem signifikanten Anstieg der freien Disopyramid-Konzentration [359]. Burrows et al. beschäftigten sich mit dem Effekt kongenitaler Herzerkrankungen bei Kindern auf die

Serumkonzentration von AGP. Die Serumkonzentration von AGP zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen Kindern mit zyanotischen Herzerkrankungen, azyanotischen Herzerkrankungen und Kindern der gesunden Kontrollgruppe. Nach Verabreichung von Lidocain korrelierte die freie Lidocainfraktion invers und linear mit der AGP Konzentration [62]. Die inter-individuelle Variation der Medikamentenserumbindung wurde bei gesunden Hunden und Hunden mit Entzündungen für Lidocain, Oxprenolol und Propranolol, die hauptsächlich an AGP binden, sowie für Diazepam, Digitoxin und Phenytoin, die hauptsächlich an Alb binden, untersucht. Für die Medikamente, die an AGP binden, bestand in beiden Gruppen eine Variabilität der Bindung, die in der Gruppe mit den Entzündungen signifikant höher war. Bei den anderen Medikamenten war die Variation der Bindung kleiner und in der Kontroll- und Entzündungsgruppe bestanden keine Unterschiede. In beiden Gruppen variierte die AGP Konzentration, war aber signifikant höher in der Gruppe mit Entzündungen, während die Alb Konzentration bei diesen Tieren niedriger war. Es zeigte sich eine signifikant negative Korrelation zwischen der prozentualen freien Lidocain-, Propranolol- und Oxprenolol- und der AGP Konzentration. Dies suggeriert, dass die inter-individuelle Variation in der Bindung dieser Medikamente auf die Variation der AGP Konzentration zurückzuführen ist [39].

Dieser Effekt ist in der Folge des katheterassoziierten Anstiegs von der AGP Konzentration bei der Therapie kardialer Patienten mit Antiarrhythmika zu bedenken. Alle Hunde mit PS erhielten den β -Blocker Atenolol. In unserer Studienpopulation erhielt nur ein Patient als Antiarrhythmikum Lidocain. Es handelt sich um den Hund mit den außergewöhnlich hohen AGP Konzentrationen. Allerdings ist es fraglich, ob der beschriebene Effekt beim Hund von klinischer Relevanz ist. In einer veterinärmedizinischen Studie zeigte sich, dass auch eine starke Proteinbindung von Lidocain an AGP beim Hund nur mit einem ggr Abfall der freien Plasmakonzentration und des antiarrhythmischen Effekts verbunden war [395]. Weiterhin kommt es in der Leber während inflammatorischer Zustände durch inflammatorische Zytokine wie IL-1 zu einer *down*-Regulierung des Medikamenten-metabolisierendem Cytochrom P450-Systems [43].

4.2.4.3 Hämatologie

4.2.4.3.1 Leukozyten

Alle Gruppen zeigen einen ähnlichen Verlauf, sodass auch die Messung der Leukozytenkonzentration nicht dazu geeignet ist, zwischen Patienten mit und ohne Komplikationen oder PDA und PS zu unterscheiden. Das unterstreicht noch einmal, dass die Komplikationen, die in der Studienpopulation vorkamen, geringgradig sind und neben der durch den Eingriff initiierten Entzündungen, keine

vermehrte systemische Inflammation stattfindet. Der Abfall der Leukozytenzahl während der Katheterintervention lässt sich durch den Verdünnungseffekt durch die verabreichte Infusion erklären. Es folgt eine milde Neutrophilie als Ausdruck der APR. Im Gegensatz zum CRP wird der Referenzbereich geringgradiger und über eine kürzere Zeitspanne überschritten.

Der Hund mit dem dekompensierten PDA zeigt keine abweichend hohen Konzentrationen. Dafür weist ein Hund mit PS-u, der einen Punktescore von 24 aufgrund eines Hodenhämatoms und postoperativ entwickelter Diarrhöe erreichte, ab dem ZP t_1 hohe Werte auf. Interessant ist, dass beispielsweise der Hund mit den hohen AGP Werten keine abweichend hohen Leukozytenzahlen zeigt und umgekehrt.

Generell existiert ein Zusammenhang zwischen APP und Wbc bzw. Neutrophilenzahl. So konnte ein signifikanter Unterschied zwischen CRP Konzentrationen klinisch gesunder Hunde und solchen mit hohen Neutrophilenzahlen sowie eine Korrelation zwischen den verschiedenen positiven APP (CRP, Hp und Cp) und Wbc bzw. segmentierten und stabkernigen neutrophilen Granulozyten detektiert werden [82, 249, 439].

Diese Zusammenhänge lassen sich auch in der Studie nachvollziehen. Sowohl anhand der Leukozytenzahl als auch anhand des CRPs lässt sich eine APR durch einen katheterassoziierten Anstieg und nachfolgenden Abfall der Konzentrationen nachvollziehen.

Trotzdem existieren Vorteile der Bestimmung der APP Konzentrationen im Vergleich zur Bestimmung der Leukozytenkonzentration: APP weisen eine höhere diagnostische Sensitivität auf. So ist z.B. Hp beim Hund 6-mal sensitiver zur Detektion von Entzündungen geeignet als Leukozyten. Zudem steigt die Hp Konzentration zum Teil schon an, wenn die Wbc noch keine Veränderungen zeigen [82, 439]. In Fällen in denen das Knochenmark nicht adäquat auf einen Entzündungsreiz reagieren kann (z.B. Myelosuppression nach Chemotherapie, Leukämie, Parvovirose) kommt es nicht zur Leukozytose aber trotzdem zum Anstieg der APP Konzentrationen [82, 198]. APP weisen eine längere analytische Stabilität auf und können auch aus gefrorenen Plasma- oder Serumproben gemessen werden. Leukogramme sind weiterhin wenig sensitiv zur Detektion einer Inflammation und können normale Ergebnisse trotz aktivem Entzündungsvorgang liefern [82, 198, 376]. Es existiert zwar eine schwach signifikante Korrelation zwischen der CRP Konzentration und der Anzahl der stabkernigen neutrophilen Granulozyten, aber der *range* der CRP Reaktion ist größer und so kann das Ausmaß der Entzündung besser eingeschätzt werden [63, 124]. Vor allem letzter Punkt hat sich auch durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie für die Evaluierung der Inflamationsreaktion nach Herzkathethereingriff beim Hund gezeigt.

Durch Ausschüttung von Epinephrin in Stresssituationen, wie beispielsweise während einer Blutentnahme, kommt es durch Steigerung des Blutdruckes zur Beschleunigung der Blutflussgeschwindigkeit. Dadurch kommt es zur Abschwemmung von Leukozyten des wandständigen *pools* in das Gefäßlumen und einer „Pseudo“-Neutrophilie, da die Gesamtzahl der polymorphkernigen Neutrophilen nicht verändert wird. Unter Stress entsteht weiterhin eine Lymphopenie. Auch dieser Effekt, der gerade bei Hunden zum ZP der Hospitalisierung oder unter ICU Bedingungen eine Rolle spielt, kann durch die Evaluierung der APP Konzentration umgangen werden.

4.2.4.3.2 Neutrophile Granulozyten

Es gilt das für die Leukozyten diskutierte (siehe 4.2.4.3.1.)

4.2.4.3.3 Lymphozyten

Auch der Abfall der Lymphozyten zum ZP t_0 kann durch eine infusionsbedingte Verdünnung erklärt werden.

Dass zum Ende des Studienzeitraums höhere Konzentrationen an Lymphozyten vorliegen als zu Beginn kann auf der einen Seite durch Entzündungsreaktionen nach der Katheterintervention erklärt werden. Auf der anderen Seite kann dies auch daran liegen, dass die initialen Werte durch Stress „falsch“ niedrig sind.

Der Referenzbereich wird nicht unterschritten und nicht wesentlich überschritten.

Warum in der Gruppe der PDA-u am Ende ein erneuter Anstieg erfolgt, bleibt unklar.

Als Parameter zur Überwachung der APR eignet sich die Lymphozytenkonzentrationen nicht, da sich ein inkonstanter Verlauf nach Kathetereingriff zeigt. Die Tiere mit PDA-c zeigen einen insgesamt niedrigeren Verlauf. Dies verdeutlicht entweder nochmal, dass die Komplikationen nicht systemischer Natur mit Auslösung einer APR sind oder dass die Lymphozyten nicht als Evaluierungsparameter der APR zu werten sind. Junge Tiere weisen insgesamt niedrigere Lymphozytenzahlen auf als ältere Tiere [503]. Da die Patienten mit PDA im Median aber älter sind als die Hunde mit PS erklärt dieses die niedrigen Konzentrationen der PDA-c nicht. Gegebenenfalls handelte es sich um besonders aufgeregte Tiere.

4.2.4.3.4 Hämatokrit

Der Hämatokritwert ist von Alter, Rasse, Geschlecht und Trainingszustand abhängig. Zu einer physiologischen Erhöhung des Hkt kommt es durch endogene Ausschüttung von Adrenalin und der

Verabreichung von Sympathomimetika. Dies geschieht, da es zu einer Kontraktion der Milz kommt wodurch gespeicherte Erythrozyten in die Zirkulation entlassen werden. Das Absinken des Hkt zum Zeitpunkt der Katheterintervention kann auf der einen Seite durch die infusionsbedingte Hämodilution erklärt werden, auf der anderen Seite kann es durch Anästhetika und ihre relaxierende Wirkung zu einer Sequestrierung der Erythrozyten in der Milz kommen.

Alle anderen Veränderungen im Verlauf der Zeit stellen eher physiologische Schwankungen als pathologische Veränderungen dar und die Werte zu Beginn der Studie unterscheiden sich mit denen am Ende der Studie nicht/nur minimal. Der Patient in der Gruppe der PS-c mit dem niedrigen Wert zum ZP t_0 entwickelte eine Schwellung im Bereich der Punktionsstelle. Der niedrige Hkt Wert lässt sich ggf. durch einen deutlicheren Blutverlust beim Legen der Schleusen erklären.

4.2.4.4 Klinische Chemie

4.2.4.4.1 Totalprotein, Albumin und Globulin

Es kommt zwar zu einem deutlichen Abfall des Alb zum ZP des Katheteringriffs, dies ist aber weniger wahrscheinlich durch eine APR als durch die Hämodilution zu erklären, denn bereits zum ZP t_1 steigt die Konzentration des negativen APP wieder deutlich. Allerdings werden die Ausgangskonzentrationen erst an den Folgetagen erreicht. Die Konzentration des Alb liegt im weiteren Verlauf außer zum ZP t_5 bei PDA-u innerhalb des Referenzbereichs und zeigt im Vergleich zum Ausgangswert nicht zuverlässig einen Konzentrationsabfall von mind. 25%, wie es im Rahmen der APR zu vermuten wäre.

Warum die Patienten mit PDA-u im Median niedrigere Albuminkonzentrationen aufweisen, bleibt unklar. Es ist unwahrscheinlich, dass es sich um ein klinisch relevantes Phänomen im Rahmen der APR handelt. Die Gruppe zeigt auch keine höheren Globulinkonzentrationen als die anderen, sodass der Albumin/Globulin-Quotient auch gegen eine durch Inflammation verursachte Veränderung spricht. Dasselbe gilt für die hohen Globulin Werte im Vergleich zu den anderen Gruppen bei den Probanden mit PDA-c.

Bei dem Patienten in der Gruppe der PS-c, der im Vergleich zu den medianen Albuminkonzentrationen seiner Gruppe vor allem ab ZP t_2 deutlich niedrigere Alb Konzentrationen aufweist, handelt es sich um dasselbe Tier, das auch auffällig niedrige Hkt Konzentrationen aufweist, sodass die Hypoalbuminämie eher Ausdruck des Blutverlustes als Ausdruck einer APR ist.

In der schon zitierten humanmedizinischen Studie von Mitchell et al. über die Entzündungsreaktion nach kardiopulmonalem *bypass* bei Kindern mit chirurgischer Korrektur angeborener

Herzerkrankungen fielen die *mean* Albuminkonzentrationen im Mittel um 18% innerhalb von 6h (teilweise durch die Hämodilution), stiegen dann leicht an, bevor sie nach 24h erneut abfallen und nach 48h einen Minimalwert (23% unter dem präoperativen Level) erreichten. Danach stiegen die Albuminlevel langsam wieder an, blieben aber bis zum fünften Tag signifikant niedriger als präoperativ [330]. Diesen biphasischen Verlauf zeigt das Alb in unserer Studie nicht.

Sowohl die Konzentrationen von Globulin als auch des TP sinken zum Zeitpunkt des Kathetereingriffs, was ebenfalls auf die Hämodilution zurückzuführen ist. Danach steigen beide Werte im Verlauf der postoperativen Phase auch über die Ausgangswerte an. Diese Veränderung ist beim Globulin stärker ausgeprägt als beim TP, da auch der sinkende Albuminanteil zur Totalproteinkonzentration beiträgt. Weiterhin wird dies verständlich, wenn man sich bewusst macht, dass die APP zur Globulinfraktion gehören. Da auch die langsamer reagierenden APP sowie nicht APP-Proteine Bestandteil der Globuline und des TP sind, erklärt sich auch der langsamere Abfall und weniger deutliche *peak*-Wert im Vergleich zum CRP.

Die Tiere mit PDA-c weisen sowohl beim Globulin als auch beim TP median insgesamt höhere Konzentrationen auf als es in den anderen Gruppen der Fall ist. Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen zeigten van Israel et al. in einem *Review*artikel, dass bei 98 Hunden mit unbehandeltem PDA bei der Hälfte der Hunde über sechs Monate niedrige Totalproteinlevel vorkommen. Die Autorin erklärt dies durch Hämodilution durch Volumenüberlastung und chronisches CHV [477]. Bei unseren Hunden mit PDA zeigten 4/10 Tieren Anzeichen einer Dekompensation, aber nur ein Patient CHV. Allerdings sind CHV und Volumenüberlastung auch kein Symptom der PS, sodass die Grunderkrankung keine Erklärung für die höheren TP- und Globulinkonzentrationen bei den PDA-c sein kann. Ein signifikanter Unterschied in Bezug auf Zeit und Komplikationen konnte in unserer Studie allerdings nur beim Globulin errechnet werden. Ein Gruppenunterschied fiel nicht auf.

Bei den meisten Spezies wie auch beim Hund ist Alb das bedeutendste negative APP. Neben der erniedrigten hepatischen Synthese kommt auch eine Extravasation durch erhöhte Gefäßpermeabilität während einer Inflammation für den Abfall der Alb Konzentration in Frage. Alb ist zwar einfacher und günstiger zu messen als die meisten anderen APP, hat aber auch schlechtere Aussagekraft bei der Diagnosestellung und beim *monitoring* von entzündlichen Erkrankungen. Für erniedrigte Albuminspiegel kommen differentialdiagnostisch beispielsweise auch Verluste des Proteins über Niere oder Darm in Frage. Ein erniedrigtes Albumin/Globulin-Verhältnis aufgrund von erniedrigtem Alb als negatives APP und erhöhtem Globulin ermöglicht die Einschätzung einer APR, ist aber weniger sensitiv und spezifisch für die Detektion klinischer und subklinischer Erkrankungen wie

positive APP, z.B. CRP [82, 227, 306, 370, 371]. So zeigte sich beispielsweise bei der Leishmaniose eine signifikant höhere CRP Konzentration bei symptomatischen Hunden im Vergleich zu asymptomatischen Hunden sowie ein signifikanter Abfall des CRPs nach erfolgreicher Behandlung, aber keine Korrelation zwischen den APP und dem Albumin/Globulin-Verhältnis [306]. Auch anhand der vorliegenden Ergebnisse kann die Aussage getroffen werden, dass CRP Alb bezüglich der Evaluierung der APR nach einem Kathetereingriff beim Hund überlegen ist.

Andere humanmedizinische Studien wie die erwähnte von Sanchez-Margalet et al., die sich mit der systemischen Entzündungsreaktion nach koronarer Stentimplantation beschäftigt, weisen Alb ebenfalls als schlechten Parameter zur Evaluierung der APR aus. Im Gegensatz zu CRP und IL-6 zeigten Alb und Präalbumin zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede [411].

4.2.4.4.2 Sonstiges

Auf die Ergebnisse des manuellen Blutbildes sowie Kreatinin, Harnstoff, Natrium, Chlorid, Kalium, ionisiertes Ca, Phosphor, Magnesium, Glukose, Bilirubin, Triglyceride, Cholesterin, Alkalische Phosphatase, Glutamatdehydrogenase, Alanin-Aminotransferase und Kreatinkinase wird nicht näher eingegangen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Akute-Phase-Proteine (APP) sind eine Gruppe von Proteinen, deren Konzentrationsanstieg bzw. -abfall eine sogenannte Akute-Phase-Reaktion (APR) anzeigen. Diese kann als unspezifische Reaktion des Organismus auf einen Gewebeschaden (ausgelöst durch Infektion, Neoplasie, Trauma etc.) verstanden werden und ist Teil des angeborenen Immunsystems. Es existieren zahlreiche verschiedene APP und speziesspezifische Unterschiede. Als für den Hund relevante APP sind unter anderem als *major* APP das sogenannte C-reaktive protein (CRP) und als *moderate* APP Haptoglobin (Hp) und α 1-saures-Glykoprotein (AGP) anzusprechen. Die Produktion der APP nach einem Stimulus erfolgt schnell und intensiv, allerdings ist ein Anstieg nicht spezifisch für eine bestimmte Erkrankung. Durch die hohe Sensitivität der APP detektieren sie einen Entzündungsreiz früher als andere diagnostische Parameter (z.B. Leukozyten) und z.T. schon im subklinischen Stadium.

Das Ziel der prospektiven Studie bestand darin, den seriellen Verlauf verschiedener APP nach therapeutischer Herzkathetherintervention bei Hunden mit persistierendem Ductus arteriosus Botalli (PDA) bzw. Pulmonalstenose (PS) zu evaluieren. Dieser sollte mit zeitgleich erhobenen klinischen Befunden und anderen Entzündungsparametern verglichen werden. Weiterhin sollte beantwortet werden, ob die APR abhängig von der Art des Eingriffes oder dem Vorliegen von Komplikationen ist.

Eingeschlossen wurden Hunde >10 kg Körpergewicht, die zwischen August 2010 und Februar 2012 mit PDA (n=10) oder PS (n=10) zur interventionellen Therapie vorgestellt wurden. Die Blutprobenentnahmen erfolgten vor, während und täglich bis zu Tag 5 nach Implantation eines *Amplatz Canine Duct Occluder* bei Hunden mit PDA bzw. nach Ballondilatation bei Hunden mit PS. Neben der Bestimmung der Konzentrationen der APP CRP (CRP, *automated turbidimetric immunoassay*, Randox), Hp (*automated hemoglobin-binding method*, Tridelta) und AGP (*radial immunodiffusion assay*, Tridelta) wurden zu jedem Zeitpunkt (ZP) auch die Konzentrationen von Albumin und Totalprotein, eine hämatologische (ADVIA 2120™, Siemens Healthcare Diagnostics) und zu ausgewählten ZP eine vollständige klinisch-chemische Blutuntersuchung sowie ein Blutausstrich ausgewertet. Zusätzlich wurden Vitalparameter bestimmt sowie eine Beurteilung der Punktionsstelle auf Entzündungsanzeichen durchgeführt.

Während und nach des Kathetereingriffs traten keine schwerwiegenden Komplikationen auf. 5/10 Hunde mit PDA und 6/10 Hunde mit PS hatten kleinere Komplikationen (PDA-c bzw. PS-c) wie beispielsweise Hämatome an der Punktionsstelle oder eine allergische Reaktion auf verabreichte Medikamente.

Basale mediane APP Konzentrationen lagen bei allen Gruppen im Referenzbereich.

Die Katheterintervention wurde von einem schnellen, hochsignifikanten ($p < 0.0001$) im Mittel 7- bis 21-fachen (je nach Gruppe) Anstieg der CRP Konzentrationen mit *peak*-Konzentrationen an Tag 1 begleitet. Außer bei PS-c wird der Referenzbereich überschritten. Im Laufe der Zeit sinkt die CRP Konzentration wieder ab und am Ende des Studienzeitraums befinden sich alle Werte innerhalb des Referenzbereichs. Hp und AGP stiegen ebenfalls post Katheterintervention hochsignifikant ($p < 0.0001$) im Mittel um das 1,4- bis 7,3- fache bzw. 1,6- bis 2,36-fache an ohne den Referenzbereich zu überschreiten. *peak*-Konzentrationen wurden zwischen Tag 2 und 3 erreicht. Am Ende des Untersuchungszeitraums wurden die Ausgangskonzentrationen noch nicht wieder erreicht. Ausnahme in Bezug auf *peak*-Zeitpunkt (hier Tag 5) und Erreichen der Ausgangskonzentrationen stellten die Patienten mit unkomplizierter PS beim Hp da.

CRP, Hp und AGP zeigten eine hochsignifikante (alle $p < 0.0001$) Veränderung der Konzentrationen im Verlauf der Zeit. Signifikante Unterschiede in Bezug auf Komplikationen oder Gruppe ergaben sich für CRP nicht. Hp zeigte bei gemeinsamer Betrachtung von Zeit und Gruppe ebenfalls ein hochsignifikante ($p < 0.0001$) Veränderung sowie bei Betrachtung von Zeitverlauf, Gruppe und Komplikationen eine signifikante Veränderung der Konzentration ($p = 0,0127$). Zeitverlauf und Gruppe sowie Zeitverlauf und Komplikationen gemeinsam ausgewertet erbrachten für AGP ebenfalls signifikante Veränderungen ($p = 0,0281$ bzw. $0,0077$).

Während des Kathetereingriffs kam es zu einem signifikanten Abfall der Körpertemperatur, der Konzentrationen von Leukozyten, Lymphozyten, Neutrophilen Granulozyten und Albumin (alle $p < 0,0001$). Körpertemperatur, Albumin Konzentrationen und Lymphozyten Konzentrationen stiegen wieder an und blieben im bzw. erreichten das Referenzintervall. An Tag 1 post Katheterintervention zeigte sich eine geringgradige Leukozytose mit Neutrophilie mit einem im Mittel 1,3- bis 2,3-fachen Anstieg verglichen mit den Ausgangskonzentrationen.

Nach interventionellem Kathetereingriff zur Therapie des kaninen PDAs bzw. der PS kommt es also zur Induktion einer ggr. ausgeprägten systemischen APR. Die APR unterscheidet sich nicht zuverlässig bei Ballondilatation von PS oder bei Verschluss eines PDAs. Da keine größeren Komplikationen wie infizierte Implantate, Sepsis etc. aufgetreten sind, kann keine Aussage über den Verlauf der APP während solcher Situationen getroffen werden. Es ist davon auszugehen, dass es zu einem drastischeren Anstieg oder einem ausbleibendem Abfall der APP Konzentrationen kommt.

CRP ist aufgrund seines deutlichsten Konzentrationsanstiegs und seiner schnellen Reaktion der am besten geeignete Entzündungsparameter, um den Entzündungsverlauf nach Herzkathetereingriffen zur Therapie angeborener Herzerkrankungen beim Hund zu beurteilen.

6 SUMMARY

Acute-phase-proteins (APP) comprise a family of proteins, which increase or decrease in its levels is a direct indicator for an ongoing *acute-phase-reaction* (APR). The APR is an unspecific reaction of the organism to a tissue damage (triggered by an infection, a neoplasia or a trauma) and is part of the innate immune system. Several distinct APP exist in mammals, however there are species specific differences. In the dog, a relevant so-called *major* APP is the *C-reactive protein* (CRP) and *moderate* APP are the proteins Haptoglobin (Hp) and α -1-acid glycoprotein 1 (AGP-1). Following an external stimulus, the production of the APP occurs rapidly and intensively, however, there is no direct correlation of the increase in its level and a specific disease. Due to its high degree of sensitivity, APP detect an inflammatory stimulus much earlier compared to other diagnostic parameters such as leukocytes. Moreover, this enables a detection of an inflammation sometimes even in the subclinical stage.

The aim of this prospective study was to evaluate the development of the level of selected APP after a therapeutic heart catheter intervention in dogs suffering from a *Patent Ductus Arteriosus Botalli* (PDA) or from *pulmonic stenosis* (PS). This development is directly correlated to clinical findings and further inflammatory parameters which were simultaneously collected in this study. Moreover, it should be analysed if the APR is dependent on the sort of intervention performed or the incidents of complications emerging during this therapy.

This study was performed with dogs of body weight of less than 10 kg, suffering from PDA (n=10) or PS (n=5) which were examined between August 2010 and February 2012 to perform an interventional therapy. To this end, blood samples were taken before the implantation and during the course of the experiment until day five after the implantation of a Amplatz Canine Duct Occluder in dogs suffering from a PDA and after a balloon dilatation in dogs with PS. Next to the determination of the levels of the APP CRP (CRP, automated turbidimetric immunoassay, Randox), Hp (automated hemoglobin-binding method, Tridelta) and AGP (radial immunodiffusion assay, Tridelta) also the concentrations of albumin and of total protein was evaluated. Furthermore, hematological analyses were performed and at distinct time points a complete clinical examination and blood smears were conducted to complete the characterisation. Finally, vital parameters were determined and the puncture site was analysed concerning indications of an occurring inflammatory reaction.

During the course of the catheter surgery, no severe complications occurred. However, for 5 of 10 dogs suffering from PDA and for 6 of 10 dogs with PS minor complications (PDA-c resp. PS-c) accompanied the intervention such as the development of hematomas at the puncture site or the occurrence of allergic reactions as response to drugs administered.

The basal median APP levels resided in the normal range for all groups tested.

The catheter intervention was accompanied by a rapid, highly significant ($p < 0.0001$) increase of the CRP concentrations to the 7- to 21-fold on average showing the maximum value at day one after the surgery. Except for PS-c, for all other patients the CRP levels were higher than the upper limits of the reference range. During the course of the experiments the CRP levels decreased until they reached the reference range at the end of the study. Also for Hp and AGP a highly significant ($p < 0.0001$) increase in their levels was observed after the catheter intervention to the 1.4- to 7.3-fold and 1.6- to 2.36-fold on average, however, without exceeding the reference range. The maximum values were reached at days 2 and 3, respectively. At the end of the period of investigation the concentrations did not return to the initial values. However, an exception regarding the time point reaching the maximum value (here: day 5) and reaching the initial values was observed for the Hp protein in the patients suffering from uncomplicated-PS.

CRP, HP and AGP showed a highly significant (for all: $p < 0.0001$) alteration of their concentrations as a function of time. However, no significant differences in the CRP concentrations were observed with respect to complications during the course of the study or regarding the study group. Hp showed highly significant ($p < 0.0001$) alteration in its concentration when collectively analysing time course and the group as well as significant changes when collectively analysing the time course, the group and the complications during the study ($p = 0.0127$). Moreover, analysing the time course and the group as well as time course and complications collectively also resulted in significant changes of the concentrations for AGP ($p = 0.0281$ and $p = 0.007$, respectively).

During the catheter intervention, a significant decrease of the internal body temperature, of the number of white blood cells, lymphocytes as well as neutrophil granulocytes and of the albumin concentration (for all: $p < 0.0001$) was observed. However, the body temperature, the albumin

concentration and the number of lymphocytes did increase and stayed at or rather approached the reference range. At day one after the catheter intervention a mild leucocytosis based on neutrophilia was observed accompanied with a 1.3- to 2.3-fold average increase of the cell numbers compared to the initial values.

To conclude, following a therapeutic catheter intervention to treat the canine PDA and PS a weak systemic APR is induced. Notably, the observed APR does not show pronounced and reliable differences comparing a balloon dilatation to treat PS or the closure of a PDA. During the course of this study no major complications, such as infected implants or development of a sepsis emerged. Therefore, it is rather speculative to predict how the the APP levels would develop under these conditions. It can be assumed that these complications would lead to a more severe increase in the APP concentrations. Alternatively, the APP might stay on a constantly high level without the possibility to be downregulated.

As a summary, due to the pronounced increase in concentrations and the rapid reaction, CRP is the most suitable inflammatory parameter to monitor and to judge the progress of an inflammation following a therapeutic catheter intervention to treat innate heart diseases in the dog.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Abdelmouttaleb I, Danchin N, Ilardo C, Aimone-Gastin I, Angioi M, Lozniewski A, Loubinoux J, Le Faou A, Guéant JL: **C-Reactive protein and coronary artery disease: additional evidence of the implication of an inflammatory process in acute coronary syndromes.** *Am. Heart J.* 1999, **137**(2):346–351.
2. Abernethy TJ, Avery OT: **The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. I. Distribution of the C-Reactive protein in patients sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with C-Polysaccharide of pneumococcus.** *J. Exp. Med.* 1941, **73**(2):173–182.
3. Abramson FP: **Dose-response behavior of the induction of alpha 1-acid glycoprotein by phenobarbital in the dog.** *Drug Metab Dispos* 1988, **16**(4):546–550.
4. Abramson FP, Moore CF, Hill MD: **Medroxyprogesterone acetate does not induce antipyrine clearance and only weakly increases alpha 1-acid glycoprotein in beagle dogs.** *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1986, **53**(1):65–78.
5. Agrawal A, Cha-Molstad H, Samols D, Kushner I: **Overexpressed nuclear factor-kappaB can participate in endogenous C-reactive protein induction, and enhances the effects of C/EBPbeta and signal transducer and activator of transcription-3.** *Immunology* 2003, **108**(4):539–547.
6. Ahmed MS, Jadhav AB, Hassan A, Meng QH: **Acute phase reactants as novel predictors of cardiovascular disease.** *ISRN Inflamm* 2012, **2012**:953461.
7. Alehan D, Dogan R, Ozkutlu S, Elshershari H, Gumruk F: **Severe hemolytic anemia after repair of primum septal defect and cleft mitral valve.** *Turk J Pediatr* 2001, **43**(4):329–331.
8. Alexandrakis I, Tuli R, Ractliffe SC, Tappin SW, Foale RD, Roos A, Slater KJ: **Utility of a multiple serum biomarker test to monitor remission status and relapse in dogs with lymphoma undergoing treatment with chemotherapy.** *Vet Comp Oncol* 2014.
9. Alper CA, Peters JH, Birtch AG, Gardner FH: **Haptoglobin synthesis. I. In vivo studies of the production of haptoglobin, fibrinogen, and gamma-globulin by the canine liver.** *J Clin Invest* 1965, **44**:574–581.
10. Alyan O, Metin F, Kacmaz F, Ozdemir O, Maden O, Topaloglu S, Demir AD, Karahan Z, Karadede A, Ilkay E: **High levels of high sensitivity C-reactive protein predict the progression of chronic rheumatic mitral stenosis.** *J Thromb Thrombolysis* 2009, **28**(1):63–69.

11. Anderson KM, Welsh CJ, Young C, Levine GJ, Kerwin SC, Boudreau CE, Reyes I, Mondragon A, Griffin JF, Cohen ND, Levine JM: **Acute Phase Proteins in Cerebrospinal Fluid from Dogs with Naturally-Occurring Spinal Cord Injury.** *J. Neurotrauma* 2015.
12. Andersson M, Sevelius E: **Abnormal microheterogeneity of haptoglobin in serum from dogs with various diseases.** *Vet Rec* 2001, **148**(1):14–17.
13. Andersson M, Stenstrom M, Vatne M, Sevelius E, Jonsson L: **Disease-related variations of the glycosylation of haptoglobin in the dog.** *J Comp Pathol* 1998, **119**(3):227–238.
14. Moritz A: **Der Einsatz lasergestützter Multi-Parameter-Hämatologiesysteme in der Veterinärmedizin.** Büchse der Pandora; 2000, Verlagsausgabe; ISBN 3-88178-169-2.
15. Moritz A: **Die diagnostische Aussage von Differentialblutbild und Knochenmarkzytologie.** *Tierärztliche Umschau* 1999, **54**:63–68.
16. Andreassen AK, Berg K, Torsvik H: **Changes in Lp(a) lipoprotein and other plasma proteins during acute myocardial infarction.** *Clin Genet* 1994, **46**(6):410–416.
17. Andus T, Bauer J, Gerok W: **Effects of cytokines on the liver.** *Hepatology* 1991, **13**(2):364–375.
18. Angerman NS, Evans MI, Moravec WD, Schumacher GF, Hajj SN: **C-reactive protein in the evaluation of antibiotic therapy for pelvic infection.** *J Reprod Med* 1980, **25**(2):63–66.
19. Aoki T, Sunahara H, Sugimoto K, Ito T, Kanai E, Fujii Y: **Infective endocarditis of the aortic valve in a Border collie dog with patent ductus arteriosus.** *J. Vet. Med. Sci.* 2015, **77**(3):331–336.
20. Arend WP, Palmer G, Gabay C: **IL-1, IL-18, and IL-33 families of cytokines.** *Immunological Reviews* 2008, **223**(1):20–38.
21. Arredouani M, Matthijs P, van Hoeyveld E, Kasran A, Baumann H, Ceuppens JL, Stevens E: **Haptoglobin directly affects T cells and suppresses T helper cell type 2 cytokine release.** *Immunology* 2003, **108**(2):144–151.
22. Arredouani MS, Kasran A, Vanoirbeek JA, Berger FG, Baumann H, Ceuppens JL: **Haptoglobin dampens endotoxin-induced inflammatory effects both in vitro and in vivo.** *Immunology* 2005, **114**(2):263–271.
23. Arruda-Olson AM, Enriquez-Sarano M, Bursi F, Weston SA, Jaffe AS, Killian JM, Roger VL: **Left Ventricular Function and C-Reactive Protein Levels in Acute Myocardial Infarction.** *The American Journal of Cardiology* 2010, **105**(7):917–921.
24. Arteaga A, Dhand NK, McCann T, Knottenbelt CM, Tebb AJ, Evans H, Eckersall PD, Ramsey IK: **Monitoring the response of canine hyperadrenocorticism to trilostane treatment by**

- assessment of acute phase protein concentrations. *Journal of Small Animal Practice* 2010, **51**(4):204–209.
25. Asaf R, Blum S, Roguin A, Kalet-Litman S, Kheir J, Frisch A, Miller-Lotan R, Levy AP: **Haptoglobin genotype is a determinant of survival and cardiac remodeling after myocardial infarction in diabetic mice.** *Cardiovasc Diabetol* 2009, **8**(1):29.
26. Atiq M, Sunnegardh J, Sudow G: **Inflammatory reactions following homograft insertion in children with congenital heart disease.** *Scand Cardiovasc J* 1998, **32**(5):285–288.
27. Bacquer D de, Backer G de, Langlois M, Delanghe J, Kesteloot H, Kornitzer M: **Haptoglobin polymorphism as a risk factor for coronary heart disease mortality.** *Atherosclerosis* 2001, **157**(1):161–166.
28. Barić Rafaj R, Kuleš J, Selanec J, Vrkić N, Zovko V, Zupančič M, Trampuš Bakija A, Matijatko V, Crnogaj M, Mrljak V: **Markers of coagulation activation, endothelial stimulation, and inflammation in dogs with babesiosis.** *J. Vet. Intern. Med.* 2013, **27**(5):1172–1178.
29. Batchelor J, Fuller J, Woodman DD: **A simple method for measurement of the haemoglobin binding capacity of canine haptoglobin.** *Lab. Anim.* 1989, **23**(4):365–369.
30. Bathen-Noethen A, Carlson R, Menzel D, Mischke R, Tipold A: **Concentrations of Acute-Phase Proteins in Dogs with Steroid Responsive Meningitis-Arteritis.** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2008, **22**(5):1149–1156.
31. Baumann H, Berger FG: **Genetics and evolution of the acute phase proteins in mice.** *Mol. Gen. Genet.* 1985, **201**(3):505–512.
32. Baumann H, Gauldie J: **The acute phase response.** *Immunol Today* 1994, **15**(2):74–80.
33. Baumann H, Jahreis GP, Gaines KC: **Synthesis and regulation of acute phase plasma proteins in primary cultures of mouse hepatocytes.** *J Cell Biol* 1983, **97**(3):866–876.
34. Baumann H, Prowse KR, Marinkovic S, Won KA, Jahreis GP: **Stimulation of hepatic acute phase response by cytokines and glucocorticoids.** *Ann N Y Acad Sci* 1989, **557**:280-95, discussion 295-6.
35. Baumann H, Richards C, Gauldie J: **Interaction among hepatocyte-stimulating factors, interleukin 1, and glucocorticoids for regulation of acute phase plasma proteins in human hepatoma (HepG2) cells.** *J. Immunol.* 1987, **139**(12):4122–4128.
36. Baumgartner C, Glaus TM: **Congenital cardiac diseases in dogs: a retrospective analysis.** *Schweiz Arch Tierheilkd* 2003, **145**(11):527-33, 535-6.
37. Bayramli G, Ulutas B: **Acute phase protein response in dogs with experimentally induced gastric mucosal injury.** *Veterinary Clinical Pathology* 2008, **37**(3):312–316.

-
38. Belpaire FM, Braeckman RA, Bogaert MG: **Binding of oxprenolol and propranolol to serum, albumin and alpha 1-acid glycoprotein in man and other species.** *Biochem. Pharmacol.* 1984, **33**(13):2065–2069.
 39. Belpaire FM, Rick A de, Dello C, Fraeyman N, Bogaert MG: **Alpha 1-acid glycoprotein and serum binding of drugs in healthy and diseased dogs.** *J Vet Pharmacol Ther* 1987, **10**(1):43–48.
 40. Bence LM, Addie DD, Eckersall PD: **An immunoturbidimetric assay for rapid quantitative measurement of feline alpha-1-acid glycoprotein in serum and peritoneal fluid.** *Vet Clin Pathol* 2005, **34**(4):335–341.
 41. Berendes E, Mollhoff T, Aken HV, Erren M, Deng MC, Loick HM: **Increased plasma concentrations of serum amyloid A: an indicator of the acute-phase response after cardiopulmonary bypass.** *Crit Care Med* 1997, **25**(9):1527–1533.
 42. Berger D, Winter M, Beger HG: **Influence of human transferrin and group-specific protein on endotoxicity in vitro.** *Clin. Chim. Acta* 1990, **189**(1):1–5.
 43. Bernlochner I, Steinhubl SR, Braun S, Morath T, Jaitner J, Stegherr J, Mehilli J, Beckerath N von, Schömig A, Kastrati A, Sibbing D: **Association between inflammatory biomarkers and platelet aggregation in patients under chronic clopidogrel treatment.** *Thromb Haemost* 2010, **104**(6):1193–1200.
 44. Bertelsen MF, Kjelgaard-Hansen M, Grøndahl C, Heegaard PMH, Jacobsen S: **Identification of acute phase proteins and assays applicable in nondomesticated mammals.** *J. Zoo Wildl. Med.* 2009, **40**(1):199–203.
 45. Berton G, Cordiano R, Palmieri R, Pianca S, Pagliara V, Palatini P: **C-reactive protein in acute myocardial infarction: association with heart failure.** *Am Heart J* 2003, **145**(6):1094–1101.
 46. Biber JL, Jabbour S, Parihar R, Dierksheide J, Hu Y, Baumann H, Bouchard P, Caligiuri MA, Carson W: **Administration of two macrophage-derived interferon-gamma-inducing factors (IL-12 and IL-15) induces a lethal systemic inflammatory response in mice that is dependent on natural killer cells but does not require interferon-gamma.** *Cell Immunol* 2002, **216**(1-2):31–42.
 47. Blake GJ, Ridker PM: **Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction.** *J. Intern. Med.* 2002, **252**(4):283–294.
 48. Blossom JE, Bright JM, Griffiths LG: **Transvenous occlusion of patent ductus arteriosus in 56 consecutive dogs.** *J Vet Cardiol* 2010, **12**(2):75–84.

-
49. Boeken U, Feindt P, Zimmermann N, Kalweit G, Petzold T, Gams E: **Increased preoperative C-reactive protein (CRP)-values without signs of an infection and complicated course after cardiopulmonary bypass (CPB)-operations.** *Eur J Cardiothorac Surg* 1998, **13**(5):541–545.
 50. Boralessa H, Beer FC de, Manchie A, Whitwam JG, Pepys MB: **C-reactive protein in patients undergoing cardiac surgery.** *Anaesthesia* 1986, **41**(1):11–15.
 51. Bornstein DL: **Leukocytic pyrogen: a major mediator of the acute phase reaction.** *Ann N Y Acad Sci* 1982, **389**:323–337.
 52. Bornstein DL, Woods JW: **Species specificity of leukocytic pyrogens.** *J Exp Med* 1969, **130**(4):707–721.
 53. Bozkurt B, Kribbs SB, Clubb FJ, Michael LH, Didenko VV, Hornsby PJ, Seta Y, Oral H, Spinale FG, Mann DL: **Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor-alpha promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats.** *Circulation* 1998, **97**(14):1382–1391.
 54. Broadbudd K, Tillson M: **Patent ductus arteriosus in dogs.** *Compend Contin Educ Vet* 2010, **32**(9):E3.
 55. Brockman DJ: **Surgical therapy for canine congenital valvular pulmonic stenosis: when and how?** *Journal of Small Animal Practice* 2012, **53**(2):87–88.
 56. Brown AL, Shiel RE, Irwin PJ: **Clinical, haematological, cytokine and acute phase protein changes during experimental Babesia gibsoni infection of beagle puppies.** *Exp. Parasitol.* 2015, **157**:185–196.
 57. Brull DJ, Serrano N, Zito F, Jones L, Montgomery HE, Rumley A, Sharma P, Lowe GDO, World MJ, Humphries SE, Hingorani AD: **Human CRP gene polymorphism influences CRP levels: implications for the prediction and pathogenesis of coronary heart disease.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, **23**(11):2063–2069.
 58. Buchanan JW, Anderson JH, White RI: **The 1st balloon valvuloplasty: an historical note.** *J Vet Intern Med* 2002, **16**(1):116–117.
 59. Buchanan JW, Patterson DF: **Etiology of patent ductus arteriosus in dogs.** *J Vet Intern Med* 2003, **17**(2):167–171.
 60. Bureau S, Monnet E, Orton EC: **Evaluation of survival rate and prognostic indicators for surgical treatment of left-to-right patent ductus arteriosus in dogs: 52 cases (1995-2003).** *J Am Vet Med Assoc* 2005, **227**(11):1794–1799.

-
61. Burger D, Chicheportiche R, Giri JG, Dayer JM: **The inhibitory activity of human interleukin-1 receptor antagonist is enhanced by type II interleukin-1 soluble receptor and hindered by type I interleukin-1 soluble receptor.** *J Clin Invest* 1995, **96**(1):38–41.
 62. Burrows FA, Lerman J, LeDez KM, Strong HA: **Alpha 1-acid glycoprotein and the binding of lidocaine in children with congenital heart disease.** *Can J Anaesth* 1990, **37**(8):883–888.
 63. Burton SA, Honor DJ, Mackenzie AL, Eckersall PD, Markham RJ, Horney BS: **C-reactive protein concentration in dogs with inflammatory leukograms.** *Am J Vet Res* 1994, **55**(5):613–618.
 64. Bussadori C, DeMadron E, Santilli RA, Borgarelli M: **Balloon valvuloplasty in 30 dogs with pulmonic stenosis: effect of valve morphology and annular size on initial and 1-year outcome.** *J Vet Intern Med* 2001, **15**(6):553–558.
 65. Caldin M, Tasca S, Carli E, Bianchini S, Furlanello T, Martinez-Subiela S, Ceron JJ: **Serum acute phase protein concentrations in dogs with hyperadrenocorticism with and without concurrent inflammatory conditions.** *Vet Clin Pathol* 2009, **38**(1):63–68.
 66. Calikoglu M, Sezer C, Unlu A, Kanik A, Tamer L, Calikoglu I: **Use of acute phase proteins in pleural effusion discrimination.** *Tuberk Toraks* 2004, **52**(2):122–129.
 67. Cambier PA, Kirby WC, Wortham DC, Moore JW: **Percutaneous closure of the small (less than 2.5 mm) patent ductus arteriosus using coil embolization.** *Am. J. Cardiol.* 1992, **69**(8):815–816.
 68. Campbell FE, Thomas WP, Miller SJ, Berger D, Kittleson MD: **Immediate and late outcomes of transarterial coil occlusion of patent ductus arteriosus in dogs.** *J Vet Intern Med* 2006, **20**(1):83–96.
 69. Campos SP, Wang Y, Koj A, Baumann H: **Divergent transforming growth factor-beta effects on IL-6 regulation of acute phase plasma proteins in rat hepatoma cells.** *J. Immunol.* 1993, **151**(12):7128–7137.
 70. Carlson JA, Achen SA, Saunders AB, Gordon SG, Miller MW: **Delayed embolization of an Amplatz(®) canine duct occluder in a dog.** *J Vet Cardiol* 2013, **15**(4):271–276.
 71. Carney P, Ruaux C, Suchodolski J, Steiner J: **Biological Variability of C-Reactive Protein and Specific Canine Pancreatic Lipase Immunoreactivity in Apparently Healthy Dogs.** *J Vet Intern Med* 2011, **25**(4):825–830.
 72. Cray C, Rodriques M, Zaias J, Altman NH: **Effects of Storage Temperature and Time on Clinical Biochemical Parameters from Rat Serum.** *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2009 Mar; **48**(2): 202–204.

-
73. Carpintero R, Piñeiro M, Andrés M, Iturralde M, Alava MA, Heegaard PMH, Jobert JL, Madec F, Lampreave F: **The concentration of apolipoprotein A-I decreases during experimentally induced acute-phase processes in pigs.** *Infect. Immun.* 2005, **73**(5):3184–3187.
74. Carretón E, Morchón R, Simón F, Juste MC, Méndez JC, Montoya-Alonso JA: **Cardiopulmonary and inflammatory biomarkers in the assessment of the severity of canine dirofilariosis.** *Vet. Parasitol.* 2014, **206**(1-2):43–47.
75. Carter K, Worwood M: **Haptoglobin: a review of the major allele frequencies worldwide and their association with diseases.** *Int J Lab Hematol* 2007, **29**(2):92–110.
76. Casas JP, Shah T, Hingorani AD, Danesh J, Pepys MB: **C-reactive protein and coronary heart disease: a critical review.** *J Intern Med* 2008, **264**(4):295–314.
77. Casella S, Fazio F, Russo C, Giudice E, Piccione G: **Acute phase proteins response in hunting dogs.** *J. Vet. Diagn. Invest.* 2013, **25**(5):577–580.
78. Caspi D, Baltz ML, Snel F, Gruys E, Niv D, Batt RM, Munn EA, Buttress N, Pepys MB: **Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog.** *Immunology* 1984, **53**(2):307–313.
79. Caspi D, Snel FW, Batt RM, Bennett D, Rutteman GR, Hartman EG, Baltz ML, Gruys E, Pepys MB: **C-reactive protein in dogs.** *Am J Vet Res* 1987, **48**(6):919–921.
80. Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, Andus T, Geiger T, Trullenque R, Fabra R, Heinrich PC: **Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes.** *FEBS Lett* 1989, **242**(2):237–239.
81. Celik S, Baykan M, Erdol C, Kilinc K, Orem A, Orem C, Durmus I: **C-Reactive protein as a risk factor for left ventricular thrombus in patients with acute myocardial infarction.** *Clin Cardiol* 2001, **24**(9):615–619.
82. Ceron JJ, Eckersall PD, Martynez-Subiela S: **Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives.** *Vet Clin Pathol* 2005, **34**(2):85–99.
83. Ceron JJ, Martinez-Subiela S, Ohno K, Caldin M: **A seven-point plan for acute phase protein interpretation in companion animals.** *Vet J* 2008, **177**(1):6–7.
84. Cha-Molstad H, Agrawal A, Zhang D, Samols D, Kushner I: **The Rel family member P50 mediates cytokine-induced C-reactive protein expression by a novel mechanism.** *J Immunol* 2000, **165**(8):4592–4597.
85. Chase D, McLauchlan G, Eckersall PD, Parkin T, Pratschke K, Pratschke J: **Acute phase protein levels in dogs with mast cell tumours and sarcomas.** *Veterinary Record* 2012, **170**(25):648.

-
86. Cheng T, Mathews KA, Abrams-Ogg ACG, Wood RD: **Relationship between assays of inflammation and coagulation: a novel interpretation of the canine activated clotting time.** *Can J Vet Res* 2009, **73**(2):97–102.
87. Cheng T, Mathews K, Abrams-Ogg A, Wood D: **The link between inflammation and coagulation: influence on the interpretation of diagnostic laboratory tests.** *Compend Contin Educ Vet* 2011, **33**(2):E1-E12.
88. Chen M, Chang J, Liu W, Yang C, Chen Y, Tsai T, Wang Y, Pan K: **Increased inflammatory cell infiltration in the atrial myocardium of patients with atrial fibrillation.** *Am J Cardiol* 2008, **102**(7):861–865.
89. Chiu-Braga YY, Hayashi SY, Schafranski M, Messias-Reason IJT: **Further evidence of inflammation in chronic rheumatic valve disease (CRVD): high levels of advanced oxidation protein products (AOPP) and high sensitive C-reactive protein (hs-CRP).** *Int. J. Cardiol.* 2006, **109**(2):275–276.
90. Christensen JH, Krarup HB, Riahi S, Toft E, Schmidt EB: **Heart rate variability is associated with haptoglobin phenotype in patients with coronary artery disease.** *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005, **12**(3):221–225.
91. Chung MK, Martin DO, Sprecher D, Wazni O, Kanderian A, Carnes CA, Bauer JA, Tchou PJ, Niebauer MJ, Natale A, van Wagoner DR: **C-reactive protein elevation in patients with atrial arrhythmias: inflammatory mechanisms and persistence of atrial fibrillation.** *Circulation* 2001, **104**(24):2886–2891.
92. Colluci WS BE: **Pathophysiology of heart failure.** In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, editors. *Heart disease. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2001.*:p. 503-533.
93. Concannon PW, Gimpel T, Newton L, Castracane VD: **Postimplantation increase in plasma fibrinogen concentration with increase in relaxin concentration in pregnant dogs.** *Am. J. Vet. Res.* 1996, **57**(9):1382–1385.
94. Conner JG, Eckersall PD, Doherty M, Douglas TA: **Acute phase response and mastitis in the cow.** *Res. Vet. Sci.* 1986, **41**(1):126–128.
95. Conner JG, Eckersall PD, Ferguson J, Douglas TA: **Acute phase response in the dog following surgical trauma.** *Res. Vet. Sci.* 1988, **45**(1):107–110.
96. Couto CG, Ceron JJ, Parra MD, Martinez-Subiela S, Iazbik MC: **Acute phase protein concentrations in retired racing Greyhounds.** *Vet Clin Pathol* 2009, **38**(2):219–223.

-
97. Crawford K, Warman SM, Marques AI, Yool DA, Eckersall PD, McCulloch E, Lynn K, Mellanby RJ, Gow AG: **Serum haptoglobin concentrations in dogs with liver disease.** *Vet. Rec.* 2013, **173**(23):579.
98. Cray C: **Acute phase proteins in animals.** *Prog Mol Biol Transl Sci* 2012, **105**:113–150.
99. Crey, C, Zaias J, Altman NH: **Acute Phase Response in Animals: A Review.** *Comp Med.* 2009(59):517–526.
100. Crossley R, Coloma A, Ríos C, González C: **Determinación de proteína C-reactiva en hembras caninas con tumores mamarios benignos y malignos.** *Arch. med. vet.* 2010, **42**(1).
101. Cunningham SM, Rush JE, Freeman LM: **Systemic inflammation and endothelial dysfunction in dogs with congestive heart failure.** *J Vet Intern Med* 2012, **26**(3):547–557.
102. Dabrowski R, Kostro K, Lisiecka U, Szczubiał M, Krakowski L: **Usefulness of C-reactive protein, serum amyloid A component, and haptoglobin determinations in bitches with pyometra for monitoring early post-ovariohysterectomy complications.** *Theriogenology* 2009, **72**(4):471–476.
103. Dąbrowski R, Kostro K, Szczubiał M: **Concentrations of C-reactive protein, serum amyloid A, and haptoglobin in uterine arterial and peripheral blood in bitches with pyometra.** *Theriogenology* 2013, **80**(5):494–497.
104. Dąbrowski R, Szczubiał M, Kostro K, Wawron W, Ceron JJ, Tvarijonaviciute A: **Serum insulin-like growth factor-1 and C-reactive protein concentrations before and after ovariohysterectomy in bitches with pyometra.** *Theriogenology* 2015, **83**(4):474–477.
105. Dabrowski R, Wawron W, Kostro K: **Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra.** *Theriogenology* 2007, **67**(2):321–327.
106. Danenberg HD, Szalai AJ, Swaminathan RV, Peng L, Chen Z, Seifert P, Fay WP, Simon DI, Edelman ER: **Increased thrombosis after arterial injury in human C-reactive protein-transgenic mice.** *Circulation* 2003, **108**(5):512–515.
107. Davutoglu V, Celik A, Aksoy M: **Contribution of selected serum inflammatory mediators to the progression of chronic rheumatic valve disease, subsequent valve calcification and NYHA functional class.** *J Heart Valve Dis* 2005, **14**(2):251–256.
108. Delanghe JR, Langlois MR, Bacquer D de, Mak R, Capel P, van Renterghem L, Backer G de: **Discriminative value of serum amyloid A and other acute-phase proteins for coronary heart disease.** *Atherosclerosis* 2002, **160**(2):471–476.

-
109. Delcroix C, Fraeyman N, Belpaire F: **A method for the assay of alpha 1-acid glycoprotein in dog serum and its application to the plasma binding of propranolol and oxprenolol in animals receiving rifampicin.** *J Pharmacol Methods* 1984, **12**(2):97–105.
110. Dello CP, Belpaire FM, Kint JA, Fraeyman NH: **Dog alpha-1-acid glycoprotein: purification and biochemical characterization.** *J Pharmacol Methods* 1987, **18**(4):335–345.
111. Dello CP, Belpaire FM, Rick A de, Fraeyman NH: **Influence of inflammation on serum concentration, molecular heterogeneity and drug binding properties of canine alpha-1-acid glycoprotein.** *J Vet Pharmacol Ther* 1988, **11**(1):71–76.
112. Dempsey E, Rudd PM: **Acute phase glycoproteins: bystanders or participants in carcinogenesis?** *Ann N Y Acad Sci* 2012, **1253**:122–132.
113. Dillman RC, Coles EH: **A canine serum fraction analogous to human C-reactive protein.** *Am. J. Vet. Res.* 1966, **27**(121):1769–1775.
114. Dinarello CA: **Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response.** *N Engl J Med* 1984, **311**(22):1413–1418.
115. Dinarello CA: **Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family.** *Annu Rev Immunol* 2009, **27**:519–550.
116. Dobryszczyka W: **Biological functions of haptoglobin--new pieces to an old puzzle.** *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997, **35**(9):647–654.
117. Dobryszczyka W, Elwyn DH, Kukral JC: **Isolation and chemical composition of canine haptoglobin.** *Biochim Biophys Acta* 1969, **175**(1):220–222.
118. Doolittle RF, Spraggon G, Everse SJ: **Three-dimensional structural studies on fragments of fibrinogen and fibrin.** *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1998, **8**(6):792–798.
119. Du Clos TW, Mold C: **The role of C-reactive protein in the resolution of bacterial infection.** *Curr Opin Infect Dis* 2001, **14**(3):289–293.
120. Du Clos TW, Mold C: **C-reactive protein: an activator of innate immunity and a modulator of adaptive immunity.** *Immunol Res* 2004, **30**(3):261–277.
121. Eaton JW, Brandt P, Mahoney JR, Lee JT: **Haptoglobin: a natural bacteriostat.** *Science* 1982, **215**(4533):691–693.
122. Eberhard DA, Vandenberg SR: **Annexins I and II bind to lipid A: a possible role in the inhibition of endotoxins.** *Biochem. J.* 1998, **330** (Pt 1):67–72.
123. Eckersall PD: **Measurment of Acute Phase proteins as Biomarkers of Disease.** www.ivis.org.

-
124. Eckersall PD: **Acute Phase Proteins as Markers of Inflammatory Lesions.** *Comp Haematol Int* 1995, **5**:93–97.
125. Eckersall PD: **The time is right for acute phase protein assays.** *Vet. J.* 2004, **168**(1):3–5.
126. Eckersall PD, Bell R: **Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine.** *Vet J* 2010, **185**(1):23–27.
127. Eckersall PD, Conner JG, Harvie J: **An immunoturbidimetric assay for canine C-reactive protein.** *Vet Res Commun* 1991, **15**(1):17–24.
128. Eckersall PD, Conner JG: **Bovine and canine acute phase proteins.** *Vet. Res. Commun.* 1988, **12**(2-3):169–178.
129. Eckersall PD, Conner JG, Parton H: **An enzyme-linked immunosorbent assay for canine C-reactive protein.** *Vet Rec* 1989, **124**(18):490–491.
130. Eckersall PD, Duthie S, Safi S, Moffatt D, Horadagoda NU, Doyle S, Parton R, Bennett D, Fitzpatrick JL: **An automated biochemical assay for haptoglobin: prevention of interference from albumin.** *Comparative Haematology International* 1999, **9**(3):117–124.
131. Eckersall PD, Duthie S, Toussaint MJ, Gruys E, Heegaard P, Alava M, Lipperheide C, Madec F: **Standardization of diagnostic assays for animal acute phase proteins.** *Adv Vet Med* 1999, **41**:643–655.
132. Eckersall PD, Harvey MJ, Ferguson JM, Renton JP, Nickson DA, Boyd JS: **Acute phase proteins in canine pregnancy (*Canis familiaris*).** *J Reprod Fertil Suppl* 1993, **47**:159–164.
133. Eckersall PD, Schmidt EMdS: **The final hurdles for acute phase protein analysis in small animal practice.** *J Small Anim Pract* 2014, **55**(1):1–3.
134. Eckersall PD, Young FJ, McComb C, Hogarth CJ, Safi S, Weber A, McDonald T, Nolan AM, Fitzpatrick JL: **Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis.** *Vet. Rec.* 2001, **148**(2):35–41.
135. Eisenhardt SU, Thiele JR, Bannasch H, Stark GB, Peter K: **C-reactive protein: how conformational changes influence inflammatory properties.** *Cell Cycle* 2009, **8**(23):3885–3892.
136. Enginler SO, Ateş A, Diren Sığircı B, Sontaş BH, Sönmez K, Karaçam E, Ekici H, Evkuran Dal G, Gürel A: **Measurement of C-reactive protein and prostaglandin F2 α metabolite concentrations in differentiation of canine pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra.** *Reprod. Domest. Anim.* 2014, **49**(4):641–647.

-
137. Fasshauer M, Klein J, Kralisch S, Klier M, Lossner U, Bluher M, Paschke R: **Serum amyloid A3 expression is stimulated by dexamethasone and interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes.** *J. Endocrinol.* 2004, **183**(3):561–567.
138. Fazio F, Casella S, Giannetto C, Giudice E, Piccione G: **Characterization of acute phase proteins and oxidative stress response to road transportation in the dog.** *Exp. Anim.* 2015, **64**(1):19–24.
139. Fey GH, Hattori M, Hocke G, Brechner T, Baffet G, Baumann M, Baumann H, Northemann W: **Gene regulation by interleukin 6.** *Biochimie* 1991, **73**(1):47–50.
140. Fine DM, Tobias AH: **Cardiovascular device infections in dogs: report of 8 cases and review of the literature.** *J Vet Intern Med* 2007, **21**(6):1265–1271.
141. Foster JD, Sample S, Kohler R, Watson K, Muir P, Trepanier LA: **Serum biomarkers of clinical and cytologic response in dogs with idiopathic immune-mediated polyarthropathy.** *J. Vet. Intern. Med.* 2014, **28**(3):905–911.
142. Fournier T, Medjoubi-N N, Porquet D: **Alpha-1-acid glycoprotein.** *Biochim. Biophys. Acta* 2000, **1482**(1-2):157–171.
143. Francis AJ, Johnson MJS, Culshaw GC, Corcoran BM, Martin MWS, French AT: **Outcome in 55 dogs with pulmonic stenosis that did not undergo balloon valvuloplasty or surgery.** *J Small Anim Pract* 2011, **52**(6):282–288.
144. Fransson BA, Bergström A, Wardrop KJ, Hagman R: **Assessment of three automated assays for C-reactive protein determination in dogs.** *American Journal of Veterinary Research* 2007, **68**(12):1281–1286.
145. Fransson BA, Karlstam E, Bergstrom A, Lagerstedt A, Park JS, Evans MA, Ragle CA: **C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia/mucometra in dogs.** *J Am Anim Hosp Assoc* 2004, **40**(5):391–399.
146. Fransson BA, Lagerstedt A, Bergstrom A, Hagman R, Park JS, Chew BP, Evans MA, Ragle CA: **C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS.** *J Veter Emer Crit* 2007, **17**(4):373–381.
147. Fröhlich M, Sund M, Russ S, Hoffmeister A, Fischer HG, Hombach V, Koenig W: **Seasonal variations of rheological and hemostatic parameters and acute-phase reactants in young, healthy subjects.** *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997, **17**(11):2692–2697.
148. Fujimoto T, Sato Y, Sasaki N, Teshima R, Hanaoka K, Kitani S: **The canine mast cell activation via CRP.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003, **301**(1):212–217.

-
149. Fujiwara M, Harada K, Mizuno T, Nishida M, Mizukoshi T, Mizuno M, Uechi M: **Surgical treatment of severe pulmonic stenosis under cardiopulmonary bypass in small dogs.** *J Small Anim Pract* 2012, **53**(2):89–94.
150. Funayama M, Mizuno T, Mizuno M, Mizukoshi T, Harada K, Sawada T, Endo M, Takeuchi J, Shinoda A, Takahashi A, Urchida S, Uechi M: **Evaluation of C-reactive Protein before and after mitral valve repair in dogs with mitral regurgitation** *ECVIM Proceedings* 2012.
151. Funke C, King DP, Brotheridge RM, Adelung D, Stott JL: **Harbor seal (*Phoca vitulina*) C-reactive protein (C-RP): purification, characterization of specific monoclonal antibodies and development of an immuno-assay to measure serum C-RP concentrations.** *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1997, **59**(1-2):151–162.
152. Galezowski AM, Snead ECR, Kidney BA, Jackson ML: **C-reactive protein as a prognostic indicator in dogs with acute abdomen syndrome.** *J Vet Diagn Invest* 2010, **22**(3):395–401.
153. Ganrot K: **Plasma protein response in experimental inflammation in the dog.** *Res Exp Med (Berl)* 1973, **161**(4):251–261.
154. Gatt ME, Urieli-Shoval S, Preciado-Patt L, Fridkin M, Calco S, Azar Y, Matzner Y: **Effect of serum amyloid A on selected in vitro functions of isolated human neutrophils.** *J. Lab. Clin. Med.* 1998, **132**(5):414–420.
155. Gauldie J, Richards C, Baumann H: **IL6 and the acute phase reaction.** *Res Immunol* 1992, **143**(7):755–759.
156. Gavaghan BJ, Lapointe JM, Thomas WP: **Acute onset of pulmonary necrotising arteritis in a dog with a left-to-right patent ductus arteriosus.** *Aust Vet J* 1998, **76**(12):786–791.
157. Gebhardt C, Hirschberger J, Rau S, Arndt G, Krainer K, Schweigert FJ, Brunnberg L, Kaspers B, Kohn B: **Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis.** *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2009, **19**(5):450–458.
158. Geffré A, Concordet D, Braun J, Trumel C: **Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel.** *Veterinary Clinical Pathology* 2011, **40**(1):107–112.
159. Geisterfer M, Richards C, Baumann M, Fey G, Gwynne D, Gauldie J: **Regulation of IL-6 and the hepatic IL-6 receptor in acute inflammation in vivo.** *Cytokine* 1993, **5**(1):1–7.
160. Gennaro L, Brunetti ND, Cuculo A, Pellegrino PL, Biase M: **Systemic inflammation in nonischemic dilated cardiomyopathy.** *Heart Vessels* 2008, **23**(6):445–450.

-
161. Gerhartz C.: **Biosynthesis and half-life of the interleukin-6 receptor and its signal transducer gp130** 1994.
162. Gewurz H, Mold C, Siegel J, Fiedel B: **C-reactive protein and the acute phase response.** *Adv Intern Med* 1982, **27**:345–372.
163. Glaus TM, Martin M, Boller M, Stafford Johnson M, Kutter A, Fluckiger M, Tofeig M: **Catheter closure of patent ductus arteriosus in dogs: variation in ductal size requires different techniques.** *J Vet Cardiol* 2003, **5**(1):7–12.
164. Glaus TM, Unterer S, Tomsa K, Baumgartner C, Geissbuhler U, Gardelle O, Reusch C: **Possibilities of minimal invasive cardiac catheter interventions in the dog.** *Schweiz Arch Tierheilkd* 2003, **145**(9):407–414.
165. Golbasi Z, Ucar O, Keles T, Sahin A, Cagli K, Camsari A, Diker E, Aydogdu S: **Increased levels of high sensitive C-reactive protein in patients with chronic rheumatic valve disease: evidence of ongoing inflammation.** *Eur J Heart Fail* 2002, **4**(5):593–595.
166. Goldstein IM, Kaplan HB, Edelson HS, Weissmann G: **Ceruloplasmin: an acute phase reactant that scavenges oxygen-derived free radicals.** *Ann N Y Acad Sci* 1982, **389**:368–379.
167. Gomme PT, McCann KB, Bertolini J: **Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions.** *Drug Discov. Today* 2005, **10**(4):267–273.
168. Goodrich KR, Kyles AE, Kass PH, Campbell F: **Retrospective comparison of surgical ligation and transarterial catheter occlusion for treatment of patent ductus arteriosus in two hundred and four dogs (1993-2003).** *Vet Surg* 2007, **36**(1):43–49.
169. Gordon SG, Miller MW: **Transarterial coil embolization for canine patent ductus arteriosus occlusion.** *Clin Tech Small Anim Pract* 2005, **20**(3):196–202.
170. Gordon SG, Saunders AB, Achen SE, Roland RM, Drourr LT, Hariu C, Miller MW: **Transarterial ductal occlusion using the Amplatz Canine Duct Occluder in 40 dogs.** *J Vet Cardiol* 2010, **12**(2):85–92.
171. Gow AG, Marques AI, Yool DA, Crawford K, Warman SM, Eckersall PD, Jalan R, Mellanby RJ: **Dogs with congenital porto-systemic shunting (cPSS) and hepatic encephalopathy have higher serum concentrations of C-reactive protein than asymptomatic dogs with cPSS.** *Metab Brain Dis* 2012, **27**(2):227–229.
172. Griebisch C, Arndt G, Raila J, Schweigert FJ, Kohn B: **C-reactive protein concentration in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia.** *Veterinary Clinical Pathology* 2009, **38**(4):421–425.

-
173. Guillén MI, Gómez-Lechón MJ, Nakamura T, Castell JV: **The hepatocyte growth factor regulates the synthesis of acute-phase proteins in human hepatocytes: divergent effect on interleukin-6-stimulated genes.** *Hepatology* 1996, **23**(6):1345–1352.
174. Gulkarov I, Pintucci G, Bohmann K, Saunders PC, Sullivan RF, Ferrari G, Mignatti P, Galloway AC: **Mechanisms of c-reactive protein up-regulation in arterialized vein grafts.** *Surgery* 2006, **139**(2):254–262.
175. Haas B, Serchi T, Wagner DR, Gilson G, Planchon S, Renaut J, Hoffmann L, Bohn T, Devaux Y: **Proteomic analysis of plasma samples from patients with acute myocardial infarction identifies haptoglobin as a potential prognostic biomarker.** *J Proteomics* 2011, **75**(1):229–236.
176. Hage FG, Szalai AJ: **C-reactive protein gene polymorphisms, C-reactive protein blood levels, and cardiovascular disease risk.** *J Am Coll Cardiol* 2007, **50**(12):1115–1122.
177. Hagman R: **Serum alpha-1-acid glycoprotein concentrations in 26 dogs with pyometra.** *Vet Clin Pathol* 2011, **40**(1):52–59.
178. Hahn KA, Freeman KP, Barnhill MA, Stephen EL: **Serum alpha 1-acid glycoprotein concentrations before and after relapse in dogs with lymphoma treated with doxorubicin.** *J Am Vet Med Assoc* 1999, **214**(7):1023–1025.
179. Haidaris PJ: **Induction of fibrinogen biosynthesis and secretion from cultured pulmonary epithelial cells.** *Blood* 1997, **89**(3):873–882.
180. Hari-Dass R, Shah C, Meyer DJ, Raynes JG: **Serum amyloid A protein binds to outer membrane protein A of gram-negative bacteria.** *J. Biol. Chem.* 2005, **280**(19):18562–18567.
181. Harvey JW, West CL: **Prednisone-induced increases in serum alpha-2-globulin and haptoglobin concentrations in dogs.** *Vet Pathol* 1987, **24**(1):90–92.
182. Hayashi S, Jinbo T, Iguchi K, Shimizu M, Shimada T, Nomura M, Ishida Y, Yamamoto S: **A comparison of the concentrations of C-reactive protein and alpha1-acid glycoprotein in the serum of young and adult dogs with acute inflammation.** *Vet. Res. Commun.* 2001, **25**(2):117–126.
183. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Muller-Newen G, Schaper F: **Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation.** *Biochem J* 2003, **374**(Pt 1):1–20.
184. Heinrich PC, Castell JV, Andus T: **Interleukin-6 and the acute phase response.** *Biochem J* 1990, **265**(3):621–636.

-
185. Heinrich PC, Horn F, Graeve L, Dittrich E, Kerr I, Muller-Newen G, Grotzinger J, Wollmer A: **Interleukin-6 and related cytokines: effect on the acute phase reaction.** *Z Ernährungswiss* 1998, **37 Suppl 1**:43–49.
186. Henrich E, Hildebrandt N, Schneider C, Hassdenteufel E, Schneider M: **Transvenous Coil Embolization of Patent Ductus Arteriosus in Small (≤ 3.0 kg) Dogs.** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2011, **25**(1):65–70.
187. Henry OF, Blacher J, Verdavaine J, Duviquet M, Safar ME: **Alpha 1-acid glycoprotein is an independent predictor of in-hospital death in the elderly.** *Age Ageing* 2003, **32**(1):37–42.
188. Higgins MA, Berridge BR, Mills BJ, Schultze AE, Gao H, Searfoss GH, Baker TK, Ryan TP: **Gene expression analysis of the acute phase response using a canine microarray.** *Toxicol. Sci.* 2003, **74**(2):470–484.
189. Hildebrandt N, Schneider C, Schweigl T, Schneider M: **Long-Term Follow-Up after Transvenous Single Coil Embolization of Patent Ductus Arteriosus in Dogs.** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2010, **24**(6):1400–1406.
190. Hillström A, Hagman R, Söder J, Häggström J, Ljungvall I, Kjelgaard-Hansen M: **Validation and application of a canine-specific automated high-sensitivity C-reactive protein assay.** *J. Vet. Diagn. Invest.* 2015, **27**(2):182–190.
191. Hillstrom A, Hagman R, Tvedten H, Kjelgaard-Hansen M: **Validation of a commercially available automated canine-specific immunoturbidimetric method for measuring canine C-reactive protein.** *Vet Clin Pathol* 2014, **43**(2):235–243.
192. Hocheptied T, Berger FG, Baumann H, Libert C: **Alpha(1)-acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties.** *Cytokine Growth Factor Rev* 2003, **14**(1):25–34.
193. Hojo T, Ohno R, Shimoda M, Kokue E: **Enzyme and plasma protein induction by multiple oral administrations of phenobarbital at a therapeutic dosage regimen in dogs.** *J Vet Pharmacol Ther* 2002, **25**(2):121–127.
194. Holme I, Aastveit AH, Hammar N, Jungner I, Walldius G: **Haptoglobin and risk of myocardial infarction, stroke, and congestive heart failure in 342,125 men and women in the Apolipoprotein MORTality RiSk study (AMORIS).** *Ann Med* 2009, **41**(7):522–532.
195. Holm JL, Rozanski EA, Freeman LM, Webster CRL: **C-reactive protein concentrations in canine acute pancreatitis.** *J Veter Emer Crit* 2004, **14**(3):183–186.

-
196. Honkanen-Buzalski T, Sandholm M: **Trypsin-inhibitors in mastitic milk and colostrum: correlation between trypsin-inhibitor capacity, bovine serum albumin and somatic cell contents.** *J. Dairy Res.* 1981, **48**(2):213–223.
197. Horadagoda NU, Eckersall PD, Andrew L, Gallay P, Heumann D, Gibbs HA: **Characterisation of bovine lipopolysaccharide binding protein and the in vivo acute phase response to Pasteurella haemolytica Type A.** *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1995, **49**(1-2):61–74.
198. Horadagoda NU, Knox KM, Gibbs HA, Reid SW, Horadagoda A, Edwards SE, Eckersall PD: **Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation.** *Vet Rec* 1999, **144**(16):437–441.
199. House EW, Ederstrom HE: **Anatomical changes with age in the heart and ductus arteriosus in the dog after birth.** *Anat Rec* 1968, **160**(2):289–295.
200. Howard M, O'Garra A: **Biological properties of interleukin 10.** *Immunol Today* 1992, **13**(6):198–200.
201. Hulton NR, Johnson DJ, Wilmore DW: **Limited effects of prostaglandin inhibitors in Escherichia coli sepsis.** *Surgery* 1985, **98**(2):291–297.
202. Ibraimi F, Ekberg B, Kriz D, Danielsson G, Bülow L: **Preparation of a portable point-of-care in vitro diagnostic system, for quantification of canine C-reactive protein, based on a magnetic two-site immunoassay.** *Anal Bioanal Chem* 2013, **405**(18):6001–6007.
203. Ibraimi F, Kriz K, Merin H, Kriz D: **Magnetic permeability based diagnostic test for the determination of the canine C-reactive protein concentration in undiluted whole blood.** *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 2009, **321**(10):1632–1634.
204. Ikenoue N, Saitsu Y, Shimoda M, Kokue E: **Disease-induced alterations in plasma drug-binding proteins and their influence on drug binding percentages in dogs.** *Vet Q* 2000, **22**(1):43–49.
205. Israili ZH, Dayton PG: **Human alpha-1-glycoprotein and its interactions with drugs.** *Drug Metab. Rev.* 2001, **33**(2):161–235.
206. Itoh H, Horiuchi Y, Nagasaki T, Sakonju I, Kakuta T, Fukushima U, Uchide T, Yamashita M, Kuwabara M, Yusa S, Takase K: **Evaluation of immunological status in tumor-bearing dogs.** *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2009, **132**(2-4):85–90.
207. Itoh H, Tamura K, Izumi M, Motoi Y, Kidoguchi K, Funayama Y: **The influence of age and health status on the serum alpha 1-acid glycoprotein level of conventional and specific pathogen-free pigs.** *Can. J. Vet. Res.* 1993, **57**(2):74–78.

-
208. Ivashchenko Y, Kramer F, Schafer S, Bucher A, Veit K, Hombach V, Busch A, Ritzeler O, Dedio J, Torzewski J: **Protein kinase C pathway is involved in transcriptional regulation of C-reactive protein synthesis in human hepatocytes.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, **25**(1):186–192.
209. Jabs WJ, Logering BA, Gerke P, Kreft B, Wolber E, Klinger MHF, Fricke L, Steinhoff J: **The kidney as a second site of human C-reactive protein formation in vivo.** *Eur J Immunol* 2003, **33**(1):152–161.
210. Jabs WJ, Theissing E, Nitschke M, Bechtel JFM, Duchrow M, Mohamed S, Jahrbeck B, Sievers H, Steinhoff J, Bartels C: **Local generation of C-reactive protein in diseased coronary artery venous bypass grafts and normal vascular tissue.** *Circulation* 2003, **108**(12):1428–1431.
211. Jamjureeruk V, Kirawittaya T, Ningsnondh V: **Mild or subclinical intravascular haemolysis subsequent to transcatheter occlusion of the patent arterial duct.** *Cardiol Young* 1999, **9**(1):58–62.
212. Janatuinen MJ, Vanttinen EA, Rantakokko V, Nikoskelainen J, Inberg MV: **Prosthetic valve endocarditis.** *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1991, **25**(2):127–132.
213. Jasensky A, Bondzio A, Murugaiyan J, Siebert U, Roesler U, Kohn B, Einspanier R: **Characterization of the native C-reactive protein (cCRP) and the corresponding liver mRNA in dogs.** *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2014, **452**(3):462–467.
214. Jasensky A, Klenner S, Einspanier R, Kohn B: **Evaluation of three different point-of-care tests for quantitative measurement of canine C-reactive protein.** *Vet Clin Pathol* 2015, **44**(2):205–214.
215. Jaswal RS, Kaushal RK, Goel A, Pathania K: **Role of C-reactive protein in deciding duration of antibiotic therapy in neonatal septicemia.** *Indian Pediatr* 2003, **40**(9):880–883.
216. Jawa RS, Anillo S, Huntoon K, Baumann H, Kulaylat M: **Analytic review: Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care: part I: basic science.** *J Intensive Care Med* 2011, **26**(1):3–12.
217. Jenkins NP, Keevil BG, Hutchinson IV, Brooks NH: **Beta-blockers are associated with lower C-reactive protein concentrations in patients with coronary artery disease.** *Am. J. Med.* 2002, **112**(4):269–274.
218. Jensen LE, Whitehead AS: **Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response.** *Biochem. J.* 1998, **334** (Pt 3):489–503.
219. Jergens AE, Schreiner CA, Frank DE, Niyo Y, Ahrens FE, Eckersall PD, Benson TJ, Evans R: **A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease.** *J Vet Intern Med* 2003, **17**(3):291–297.

-
220. Jiang R, Zhao S, Li M, Liu F, Li L, Yang G, Wang Z, Yu D, Huang L, Huang X: **Myocardial injury and inflammatory response after interventional therapy in children with congenital heart disease.** *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2012, **14**(6):422–425.
221. Jinbo T, Hayashi S, Iguchi K, Shimizu M, Matsumoto T, Naiki M, Yamamoto S: **Development of monkey C-reactive protein (CRP) assay methods.** *Vet Immunol Immunopathol* 1998, **61**(2-4):195–202.
222. Jitpean S, Pettersson A, Höglund OV, Holst BS, Olsson U, Hagman R: **Increased concentrations of Serum amyloid A in dogs with sepsis caused by pyometra.** *BMC Vet. Res.* 2014, **10**:273.
223. Johnson MS, Martin M: **Results of balloon valvuloplasty in 40 dogs with pulmonic stenosis.** *J Small Anim Pract* 2004, **45**(3):148–153.
224. Johnson MS, Martin M, Edwards D, French A, Henley W: **Pulmonic stenosis in dogs: balloon dilation improves clinical outcome.** *J Vet Intern Med* 2004, **18**(5):656–662.
225. Kajikawa T, Furuta A, Onishi T, Tajima T, Sugii S: **Changes in concentrations of serum amyloid A protein, alpha 1-acid glycoprotein, haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery.** *Vet Immunol Immunopathol* 1999, **68**(1):91–98.
226. Kanda T, Takahashi T: **Interleukin-6 and cardiovascular diseases.** *Jpn Heart J* 2004, **45**(2):183–193.
227. Eckersall PD: **Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias.** In: *Clinical biochemistry domestic animals*, 6th ed, Kaneko, Harvey and Bruss, Elsevier, 2008, Chapter 5 S. 117-141.
228. Kapadia SR, Yakoob K, Nader S, Thomas JD, Mann DL, Griffin BP: **Elevated circulating levels of serum tumor necrosis factor-alpha in patients with hemodynamically significant pressure and volume overload.** *J Am Coll Cardiol* 2000, **36**(1):208–212.
229. Kaplan MH: **C-reactive protein: relation to disease and pathological significance.** *Ann N Y Acad Sci* 1982, **389**:419–422.
230. Karlsson I, Wernersson S, Ambrosen A, Kindahl H, Södersten F, Wang L, Hagman R: **Increased concentrations of C-reactive protein but not high-mobility group box 1 in dogs with naturally occurring sepsis.** *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2013, **156**(1-2):64–72.
231. Katayama T, Nakashima H, Takagi C, Honda Y, Suzuki S, Iwasaki Y, Yano K: **Prognostic value of serum amyloid A protein in patients with acute myocardial infarction.** *Circ. J.* 2005, **69**(10):1186–1191.

-
232. Katnik I, Pupek M, Stefaniak T: **Cross reactivities among some mammalian haptoglobins studied by a monoclonal antibody.** *Comp. Biochem. Physiol. B, Biochem. Mol. Biol.* 1998, **119**(2):335–340.
233. Kato GJ: **Haptoglobin halts hemoglobin's havoc.** *J. Clin. Invest.* 2009.
234. Katoh N, Miyamoto T, Nakagawa H, Watanabe A: **Detection of annexin I and IV and haptoglobin in bronchoalveolar lavage fluid from calves experimentally inoculated with *Pasteurella haemolytica*.** *Am. J. Vet. Res.* 1999, **60**(11):1390–1395.
235. Kazmierczak M, Sobieska M, Wiktorowicz K, Wysocki H: **Changes of acute phase proteins glycosylation profile as a possible prognostic marker in myocardial infarction.** *Int J Cardiol* 1995, **49**(3):201–207.
236. Kenyon CL, Basaraba RJ, Bohn AA: **Influence of endurance exercise on serum concentrations of iron and acute phase proteins in racing sled dogs.** *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2011, **239**(9):1201–1210.
237. Kerr R, Stirling D, Ludlam CA: **Interleukin 6 and haemostasis.** *Br J Haematol* 2001, **115**(1):3–12.
238. Kim H, Baumann H: **The carboxyl-terminal region of STAT3 controls gene induction by the mouse haptoglobin promoter.** *J Biol Chem* 1997, **272**(23):14571–14579.
239. Kishimoto T: **IL-6: from laboratory to bedside.** *Clin Rev Allergy Immunol* 2005, **28**(3):177–186.
240. Kishimoto T: **Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology.** *Annu Rev Immunol* 2005, **23**:1–21.
241. Kishimoto T, Akira S, Taga T: **IL-6 receptor and mechanism of signal transduction.** *Int J Immunopharmacol* 1992, **14**(3):431–438.
242. Kishimoto T, Akira S, Taga T: **Interleukin-6 and its receptor: a paradigm for cytokines.** *Science* 1992, **258**(5082):593–597.
243. Kishimoto T, Taga T, Akira S: **Cytokine signal transduction.** *Cell* 1994, **76**(2):253–262.
244. Kjelgaard-Hansen M: **Comments on measurement of C-reactive protein in dogs.** *Veterinary Clinical Pathology* 2010, **39**(4):402–403.
245. Kjelgaard-Hansen M, Jensen AL, Houser GA, Jessen LR, Kristensen AT: **Use of serum C-reactive protein as an early marker of inflammatory activity in canine type II immune-mediated polyarthritis: case report.** *Acta Vet Scand* 2006, **48**:9.

-
246. Kjelgaard-Hansen M, Jensen AL, Kristensen AT: **Evaluation of a commercially available human C-reactive protein (CRP) turbidometric immunoassay for determination of canine serum CRP concentration.** *Vet Clin Pathol* 2003, **32**(2):81–87.
246. Kjelgaard-Hansen M, Kristensen AT, Jensen AL: **Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the determination of C-reactive protein in canine serum.** *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2003, **50**(3):164–168.
247. Kjelgaard-Hansen M, Jensen AL, Kristensen AT: **Internal quality control of a turbidimetric immunoassay for canine serum C-reactive protein based on pooled patient samples.** *Vet Clin Pathol* 2004, **33**(3):139–144.
248. Kjelgaard-Hansen M, Martinez-Subiela S, Petersen HH, Jensen AL, Ceron JJ: **Evaluation and comparison of two immunoturbidimetric assays for the heterologous determination of porcine serum C-reactive protein.** *Vet J* 2007, **173**(3):571–577.
249. Kjelgaard-Hansen M, Mikkelsen LF, Kristensen AT, Jensen AL: **Study on biological variability of five acute-phase reactants in dogs.** *Comparative Clinical Pathology* 2003, **12**(2):69–74.
250. Kjelgaard-Hansen M, Stadler M, Jensen AL: **Canine serum C-reactive protein detected by means of a near-patient test for human C-reactive protein.** *J Small Animal Practice* 2008, **49**(6):282–286.
251. Kjelgaard-Hansen M, Strom H, Mikkelsen LF, Eriksen T, Jensen AL, Luntang-Jensen M: **Canine serum C-reactive protein as a quantitative marker of the inflammatory stimulus of aseptic elective soft tissue surgery.** *Vet Clin Pathol* 2013, **42**(3):342–345.
252. Kleijn DPV de, Smeets MB, Kemmeren PPCW, Lim SK, van Middelaar BJ, Velema E, Schoneveld A, Pasterkamp G, Borst C: **Acute-phase protein haptoglobin is a cell migration factor involved in arterial restructuring.** *FASEB J* 2002, **16**(9):1123–1125.
253. Klenner S, Bauer N, Moritz A: **Evaluation of Three Automated Human Immunoturbidimetric Assays for the Detection of C-Reactive Protein in Dogs.** *J Vet Diagn Invest* 2010, **22**(4):544–552.
254. Knapp A: **Konzentration des C-reaktiven Proteins (CRP) im Blutserum bei Hunden mit postoperativen Wundheilungsstörungen** *Tierärztl. Praxis*, 2009, 37 (K): 21-27.
255. Kocaturk M, Martinez S, Eralp O, Tvarijonaviciute A, Ceron J, Yilmaz Z: **Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis.** *J Small Anim Pract* 2010, **51**(9):478–483.

256. Kocaturk M, Tvarijonaviciute A, Martinez-Subiela S, Tecles F, Eralp O, Yilmaz Z, Ceron JJ: **Inflammatory and oxidative biomarkers of disease severity in dogs with parvoviral enteritis.** *J Small Anim Pract* 2014:n/a.
257. Koj A: **Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines.** *Biochim Biophys Acta* 1996, **1317**(2):84–94.
258. Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, Zinkernagel R, Bluethmann H, Kohler G: **Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice.** *Nature* 1994, **368**(6469):339–342.
259. Köster LS, van Schoor M, Goddard A, Thompson PN, Matjila PT, Kjelgaard-Hansen M: **C-reactive protein in canine babesiosis caused by Babesia rossi and its association with outcome.** *J S Afr Vet Assoc* 2009, **80**(2):87–91.
260. Kourliouros A, Camm AJ: **Does inflammation influence atrial fibrillation recurrence following catheter ablation?** *Europace* 2009, **11**(2):135–137.
261. Kramer F, Torzewski J, Kamenz J, Veit K, Hombach V, Dedio J, Ivashchenko Y: **Interleukin-1 β stimulates acute phase response and C-reactive protein synthesis by inducing an NF κ B- and C/EBP β -dependent autocrine interleukin-6 loop.** *Molecular Immunology* 2008, **45**(9):2678–2689.
262. Kramer TT, Griffith RW, Saucke L: **Iron and transferrin in acute experimental Salmonella cholerae-suis infection in pigs.** *Am. J. Vet. Res.* 1985, **46**(2):451–455.
263. Krasuski RA, Bush A, Kay JE, Mayes CE, Wang A, Fleming J, Pierce C, Kisslo KB, Harrison JK, Bashore TM: **C-reactive protein elevation independently influences the procedural success of percutaneous balloon mitral valve commissurotomy.** *Am. Heart J.* 2003, **146**(6):1099–1104.
264. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, Sonne O, Hoffman HJ, Law SK, Moestrup SK: **Identification of the haemoglobin scavenger receptor.** *Nature* 2001, **409**(6817):198–201.
265. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN: **Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. Multiple Risk Factor Intervention Trial.** *Am J Epidemiol* 1996, **144**(6):537–547.
266. Kumagai K, Nakashima H, Saku K: **The HMG-CoA reductase inhibitor atorvastatin prevents atrial fibrillation by inhibiting inflammation in a canine sterile pericarditis model.** *Cardiovasc Res* 2004, **62**(1):105–111.
267. Kumazaki T, Urushibara N, Ishii S: **Amino acid sequence and disulfide-bridge location of canine haptoglobin.** *J. Biochem.* 1992, **112**(1):11–19.

-
268. Kum C, Voyvoda H, Sekkin S, Karademir U, Tarimcilar T: **Effects of carprofen and meloxicam on C-reactive protein, ceruloplasmin, and fibrinogen concentrations in dogs undergoing ovariohysterectomy.** *Am. J. Vet. Res.* 2013, **74**(10):1267–1273.
269. Kuribayashi T, Seita T, Momotani E, Yamazaki S, Hagimori K, Yamamoto S: **Elimination Half-Lives of Acute Phase Proteins in Rats and Beagle Dogs During Acute Inflammation.** *Inflammation* 2015, **38**(4):1401–1405.
270. Kuribayashi T, Shimada T, Matsumoto M, Kawato K, Honjyo T, Fukuyama M, Yamamoto Y, Yamamoto S: **Determination of serum C-reactive protein (CRP) in healthy beagle dogs of various ages and pregnant beagle dogs.** *Exp. Anim.* 2003, **52**(5):387–390.
271. Kuribayashi T, Shimizu M, Shimada T, Honjyo T, Yamamoto Y, Kuba K, Yamamoto S: **Alpha 1-acid glycoprotein (AAG) levels in healthy and pregnant beagle dogs.** *Exp. Anim.* 2003, **52**(5):377–381.
272. Kuribayashi T, Tomizawa M, Seita T, Tagata K, Yamamoto S: **Relationship between production of acute-phase proteins and strength of inflammatory stimulation in rats.** *Laboratory Animals* 2011, **45**(3):215–218.
273. Kurosky A, Hay RE, Bowman BH: **Canine haptoglobin: a unique haptoglobin subunit arrangement.** *Comp Biochem Physiol B* 1979, **62**(4):339–344.
274. Kurtoglu E, Korkmaz H, Akturk E, Yilmaz M, Altas Y, Uckan A: **Association of mitral annulus calcification with high-sensitivity C-reactive protein, which is a marker of inflammation.** *Mediators Inflamm* 2012, **2012**:606207.
275. Kushner I: **The phenomenon of the acute phase response.** *Ann N Y Acad Sci* 1982, **389**:39–48.
276. Kushner I: **Regulation of the acute phase response by cytokines.** *Perspect Biol Med* 1993, **36**(4):611–622.
277. Kushner I, Rzewnicki DL: **The acute phase response: general aspects.** *Baillieres Clin Rheumatol* 1994, **8**(3):513–530.
278. Kuster B, Hunter AP, Wheeler SF, Dwek RA, Harvey DJ: **Structural determination of N-linked carbohydrates by matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry following enzymatic release within sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide electrophoresis gels: application to species-specific glycosylation of alpha1-acid glycoprotein.** *Electrophoresis* 1998, **19**(11):1950–1959.

279. Lacki JK, Klama K, Samborski W, Mackiewicz S, Mackiewicz U, Muller W: **Acute phase response in rheumatoid arthritis patients treated with immunosuppressive drugs.** *Mater Med Pol* 1995, **27**(2):47–51.
280. Latini R, Masson S, Bertini R, Maggioni AP, Ghezzi P, Calvillo L: **Cardiac protection by pharmacological modulation of inflammation.** *Expert Opin Investig Drugs* 2001, **10**(11):1913–1924.
281. Levy AP, Asleh R, Blum S, Levy NS, Miller-Lotan R, Kalet-Litman S, Anbinder Y, Lache O, Nakhoul FM, Asaf R, Farbstein D, Pollak M, Soloveichik YZ, Strauss M, Alshiek J, Livshits A, Schwartz A, Awad H, Jad K, Goldenstein H: **Haptoglobin: Basic and Clinical Aspects.** *Antioxidants & Redox Signaling* 2010, **12**(2):293–304.
282. Lewis MR, Callas PW, Jenny NS, Tracy RP: **Longitudinal stability of coagulation, fibrinolysis, and inflammation factors in stored plasma samples.** *Thromb Haemost* 2001, **86**(6):1495–1500.
283. Libert C, Brouckaert P, Fiers W: **Protection by alpha 1-acid glycoprotein against tumor necrosis factor-induced lethality.** *J. Exp. Med.* 1994, **180**(4):1571–1575.
284. Ljungvall I, Håglund K, Tidholm A, Olsen L, Borgarelli M, Venge P, Håggström J: **Cardiac Troponin I Is Associated with Severity of Myxomatous Mitral Valve Disease, Age, and C-Reactive Protein in Dogs.** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2010, **24**(1):153–159.
285. Lobetti RG, Mohr AJ, Dippenaar T, Myburgh E: **A preliminary study on the serum protein response in canine babesiosis.** *J S Afr Vet Assoc* 2000, **71**(1):38–42.
286. Locatelli C, Spalla I, Domenech O, Sala E, Brambilla PG, Bussadori C: **Pulmonic stenosis in dogs: survival and risk factors in a retrospective cohort of patients.** *J Small Anim Pract* 2013, **54**(9):445–452.
287. Lowe G, Rumley A: **Clinical benefit of fibrinogen evaluation.** *Blood Coagul. Fibrinolysis* 1999, **10 Suppl 1**:S87-9.
288. Lowrie M, Penderis J, Eckersall P, McLaughlin M, Mellor D, Anderson T: **The role of acute phase proteins in diagnosis and management of steroid-responsive meningitis arteritis in dogs.** *The Veterinary Journal* 2009, **182**(1):125–130.
289. Lowrie M, Penderis J, McLaughlin M, Eckersall P, Anderson T: **Steroid Responsive Meningitis-Arteritis: A Prospective Study of Potential Disease Markers, Prednisolone Treatment, and Long-Term Outcome in 20 Dogs (2006-2008).** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2009, **23**(4):862–870.

-
290. Loyer P, Ilyin G, Abdel Razzak Z, Banchereau J, Dezier JF, Campion JP, Guguen-Guillouzo C, Guillouzo A: **Interleukin 4 inhibits the production of some acute-phase proteins by human hepatocytes in primary culture.** *FEBS Lett* 1993, **336**(2):215–220.
291. Lucas V, Barrera R, Duque FJ, Ruiz P, Zaragoza C: **Effect of exercise on serum markers of muscle inflammation in Spanish Greyhounds.** *Am. J. Vet. Res.* 2015, **76**(7):637–643.
292. MacDonald KA: **Congenital heart diseases of puppies and kittens.** *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2006, **36**(3):503–31, vi.
293. Mackiewicz A, Ganapathi MK, Schultz D, Brabenec A, Weinstein J, Kelley MF, Kushner I: **Transforming growth factor beta 1 regulates production of acute-phase proteins.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990, **87**(4):1491–1495.
294. Maddens BE, Daminet S, Demeyere K, Demon D, Smets P, Meyer E: **Validation of immunoassays for the candidate renal markers C-reactive protein, immunoglobulin G, thromboxane B2 and retinol binding protein in canine urine.** *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2010, **134**(3-4):259–264.
295. Madsen M, Graversen JH, Moestrup SK: **Haptoglobin and CD163: captor and receptor gating hemoglobin to macrophage lysosomes.** *Redox Rep* 2001, **6**(6):386–388.
296. Mansfield CS, James FE, Robertson ID: **Development of a clinical severity index for dogs with acute pancreatitis.** *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2008, **233**(6):936–944.
297. Marnell L, Mold C, Du Clos TW: **C-reactive protein: ligands, receptors and role in inflammation.** *Clin. Immunol.* 2005, **117**(2):104–111.
298. Martinez-Subiela S, Bernal LJ, Ceron JJ: **Serum concentrations of acute-phase proteins in dogs with leishmaniosis during short-term treatment.** *Am J Vet Res* 2003, **64**(8):1021–1026.
299. Martínez-Subiela S, Caldin M, Parra MD, Ottolini N, Bertolini G, Bernal LJ, García-Martínez JD, Cerón JJ: **Canine C-reactive protein measurements in cerebrospinal fluid by a time-resolved immunofluorimetric assay.** *J. Vet. Diagn. Invest.* 2011, **23**(1):63–67.
300. Martinez-Subiela S, Ceron JJ: **Evaluation of acute phase protein indexes in dogs with leishmaniasis at diagnosis, during and after short-term treatment.**
301. Martinez-Subiela S, Ceron JJ: **Effects of hemolysis, lipemia, hyperbilirrubinemia, and anticoagulants in canine C-reactive protein, serum amyloid A, and ceruloplasmin assays.** *Can Vet J* 2005, **46**(7):625–629.

-
302. Martínez-Subiela S, García-Martínez JD, Tvarijonaviciute A, Tecles F, Caldin M, Bernal LJ, Cerón JJ: **Urinary C reactive protein levels in dogs with leishmaniasis at different stages of renal damage.** *Research in Veterinary Science* 2013, **95**(3):924–929.
303. Martínez-Subiela S, Ginel PJ, Ceron JJ: **Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs.** *Vet Rec* 2004, **154**(26):814–817.
304. Martínez-Subiela S, Strauss-Ayali D, Cerón JJ, Baneth G: **Acute phase protein response in experimental canine leishmaniosis.** *Veterinary Parasitology* 2011, **180**(3-4):197–202.
305. Martínez-Subiela S, Tecles F, Cerón JJ: **Critical differences of acute phase proteins in canine serum samples.** *The Veterinary Journal* 2003, **166**(3):233–237.
306. Martínez-Subiela S, Tecles F, Eckersall PD, Ceron JJ: **Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis.** *Vet Rec* 2002, **150**(8):241–244.
307. Mastroiilli C, Dondi F, Agnoli C, Turba ME, Vezzali E, Gentilini F: **Clinicopathologic features and outcome predictors of Leptospira interrogans Australis serogroup infection in dogs: a retrospective study of 20 cases (2001-2004).** *J Vet Intern Med* 2007, **21**(1):3–10.
308. Matijatko V, Mrljak V, Kis I, Kucer N, Forsek J, Zivicnjak T, Romic Z, Simec Z, Ceron JJ: **Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with Babesia canis.** *Vet Parasitol* 2007, **144**(3-4):242–250.
309. Matsumoto K, Nishi K, Tokutomi Y, Irie T, Suenaga A, Otagiri M: **Effects of alpha 1-acid glycoprotein on erythrocyte deformability and membrane stabilization.** *Biol Pharm Bull* 2003, **26**(1):123–126.
310. Matsumoto K, Sukimoto K, Nishi K, Maruyama T, Suenaga A, Otagiri M: **Characterization of ligand binding sites on the alpha1-acid glycoprotein in humans, bovines and dogs.** *Drug Metab Pharmacokinet* 2002, **17**(4):300–306.
311. Schneider M: **Vergleichende Untersuchung zur Wertigkeit der klassisch-kardiologischen Untersuchung und der Ultraschalluntersuchung in der Diagnostik von Herzmissbildungen beim Hund,** Inaugural-Dissertation. Gießen; 1997.
312. Mattila T, Saari S, Vartiala H, Sandholm M: **Milk antitrypsin as a marker of bovine mastitis--correlation with bacteriology.** *J. Dairy Sci.* 1985, **68**(1):114–122.
313. Maury CP: **Comparative study of serum amyloid A protein and C-reactive protein in disease.** *Clin. Sci.* 1985, **68**(2):233–238.
314. McClure V, van Schoor M, Thompson PN, Kjølgaard-Hansen M, Goddard A: **Evaluation of the use of serum C-reactive protein concentration to predict outcome in puppies infected with**

- canine parvovirus. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2013, **243**(3):361–366.
315. McDonald TL, Larson MA, Mack DR, Weber A: **Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A 3 (M-SAA3) into colostrum.** *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2001, **83**(3-4):203–211.
316. McGrotty YL, Arteaga A, Knottenbelt CM, Ramsey IK, Eckersall PD: **Haptoglobin concentrations in dogs undergoing trilostane treatment for hyperadrenocorticism.** *Vet Clin Pathol* 2005, **34**(3):255–258.
317. McGrotty YL, Knottenbelt CM, Ramsey IK, Reid SWJ, Eckersall PD: **Haptoglobin concentrations in a canine hospital population.** *Vet Rec* 2003, **152**(18):562–564.
318. McGrotty YL, Knottenbelt CM, Ramsey IK, Reid SWJ, Eckersall PD: **Evaluation of a rapid assay for canine C-reactive protein.** *Vet Rec* 2004, **154**(6):175–176.
319. McNair J, Elliott C, Bryson DG, Mackie DP: **Bovine serum transferrin concentration during acute infection with Haemophilus somnus.** *Vet. J.* 1998, **155**(3):251–255.
320. Meijer M, Beijerink NJ: **Persisterende ductus arteriosus bij de hond: een retrospectieve studie naar klinische presentatie, diagnostiek, en vergelijking van toegepaste therapeutische mogelijkheden bij 102 honden (2003-2011).** *Tijdschr Diergeneeskde* 2012, **137**(6):376–383.
321. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC: **C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study.** *BMJ* 1996, **312**(7038):1061–1065.
322. Méndez JC, Carretón E, Martínez S, Tvarijonaviciute A, Cerón JJ, Montoya-Alonso JA: **Acute phase response in dogs with Dirofilaria immitis.** *Vet. Parasitol.* 2014, **204**(3-4):420–425.
323. Méndez JC, Carretón E, Martínez-Subiela S, Tvarijonaviciute A, Cerón JJ, Montoya-Alonso JA: **Acute phase protein response in heartworm-infected dogs after adulticide treatment.** *Vet. Parasitol.* 2015, **209**(3-4):197–201.
324. Merlo A, Rezende BCG, Franchini ML, Monteiro PRG, Lucas SRR: **Serum amyloid A is not a marker for relapse of multicentric lymphoma in dogs.** *Veterinary Clinical Pathology* 2008, **37**(1):79–85.
325. Merlo A, Rezende BCG, Franchini ML, Simoes DMN, Lucas SRR: **Serum C-reactive protein concentrations in dogs with multicentric lymphoma undergoing chemotherapy.** *J Am Vet Med Assoc* 2007, **230**(4):522–526.

-
326. Miller JB: **Hyperthermia and fever of unknown origin.** In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Vol 1. 7th ed, Ettinger SJ, Feldman EC, St. Louis: Elsevier Saunders, 2010, Chapter 10 S 41–45.
327. Miller MW, Gordon SG, Saunders AB, Arsenault WG, Meurs KM, Lehmkuhl LB, Bonagura JD, Fox PR: **Angiographic classification of patent ductus arteriosus morphology in the dog.** *J Vet Cardiol* 2006, **8**(2):109–114.
328. Mischke R, Waterston M, Eckersall PD: **Changes in C-reactive protein and haptoglobin in dogs with lymphatic neoplasia.** *Vet J* 2007, **174**(1):188–192.
329. Mischke R, Wohlsein P, Busse L, Pohlenz J: **Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse bei Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom.** *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 1998, **140**(12):497–505.
330. Mitchell IM, Brady L, Black J, Jamieson MP, Pollock JC, Logan RW: **The acute phase response to cardiopulmonary bypass in children.** *Perfusion* 1996, **11**(2):103–112.
331. Mitchell K, Kruth S, Wood R, Jefferson B: **Serum Acute Phase Protein Concentrations in Dogs with Autoimmune Hemolytic Anemia.** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2009, **23**(3):585–591.
332. Mizuno T, Kamiyama H, Mizuno M, Mizukoshi T, Shinoda A, Harada K, Uchida S, Lee J, Kasuya A, Sawada T, Uechi M: **Plasma cytokine levels in dogs undergoing cardiopulmonary bypass.** *Res. Vet. Sci.* 2015, **101**:99–105.
333. Mold C, Baca R, Du Clos TW: **Serum amyloid P component and C-reactive protein opsonize apoptotic cells for phagocytosis through Fcγ receptors.** *J Autoimmun* 2002, **19**(3):147–154.
334. Mold C, Du Clos TW: **C-reactive protein increases cytokine responses to Streptococcus pneumoniae through interactions with Fc γ receptors.** *J Immunol* 2006, **176**(12):7598–7604.
335. Mold C, Du Clos TW, Nakayama S, Edwards KM, Gewurz H: **C-reactive protein reactivity with complement and effects on phagocytosis.** *Ann N Y Acad Sci* 1982, **389**:251–262.
336. Mold C, Gewurz H, Du Clos TW: **Regulation of complement activation by C-reactive protein.** *Immunopharmacology* 1999, **42**(1-3):23–30.
337. Mold C, Rodic-Polic B, Du Clos TW: **Protection from Streptococcus pneumoniae infection by C-reactive protein and natural antibody requires complement but not Fc γ receptors.** *J Immunol* 2002, **168**(12):6375–6381.

-
338. Mold C, Rodriguez W, Rodic-Polic B, Du Clos TW: **C-reactive protein mediates protection from lipopolysaccharide through interactions with Fc gamma R.** *J Immunol* 2002, **169**(12):7019–7025.
339. Mominoki K, Nakagawa-Tosa N, Morimatsu M, Syuto B, Saito M: **Haptoglobin in Carnivora: a unique molecular structure in bear, cat and dog haptoglobins.** *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1995, **110**(4):785–789.
340. Mori T, Sasaki J, Kawaguchi H, Handa K, Takada Y, Matsunaga A, Kono S, Arakawa K: **Serum glycoproteins and severity of coronary atherosclerosis.** *Am Heart J* 1995, **129**(2):234–238.
341. Mortensen RF, Zhong W: **Regulation of phagocytic leukocyte activities by C-reactive protein.** *J. Leukoc. Biol.* 2000, **67**(4):495–500.
342. Moshage H: **Cytokines and the hepatic acute phase response.** *J Pathol* 1997, **181**(3):257–266.
343. Mukorera V, Dvir E, van der Merwe L, Goddard A: **Serum C-Reactive Protein Concentration in Benign and Malignant Canine Spirocercosis.** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2011, **25**(4):963–966.
344. Munhoz TD, Faria JLM, Vargas-Hernandez G, Fagliari JJ, Santana AE, Machado RZ, Tinucci-Costa M: **Experimental Ehrlichia canis infection changes acute-phase proteins.** *Rev Bras Parasitol Vet* 2012, **21**(3):206–212.
345. Murata H, Shimada N, Yoshioka M: **Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview.** *The Veterinary Journal* 2004, **168**(1):28–40.
346. Mylonakis M, Ceron J, Leontides L, Siarkou V, Martinez S, Tvarijonaviciute A, Koutinas A, Harrus S: **Serum Acute Phase Proteins as Clinical Phase Indicators and Outcome Predictors in Naturally Occurring Canine Monocytic Ehrlichiosis.** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2011, **25**(4):811–817.
347. Mylonakis ME, Ceron JJ, Leontides L, Rallis TS, Koutinas AF: **Serum acute phase proteins in dogs with symptomatic esophageal spirocercosis.** *Vet. Parasitol.* 2012, **190**(1-2):191–195.
348. Nakamura M, Takahashi M, Ohno K, Koshino A, Nakashima K, Setoguchi A, Fujino Y, Tsujimoto H: **C-reactive protein concentration in dogs with various diseases.** *J. Vet. Med. Sci.* 2008, **70**(2):127–131.
349. Nakamura R, Egashira K, Machida Y, Hayashidani S, Takeya M, Utsumi H, Tsutsui H, Takeshita A: **Probucol attenuates left ventricular dysfunction and remodeling in tachycardia-induced heart failure: roles of oxidative stress and inflammation.** *Circulation* 2002, **106**(3):362–367.

-
350. Nakata K, Saitoh R, Amano J, Koshiyama A, Ichibangase T, Murao N, Ohta K, Aso Y, Ishigai M, Imai K: **Alteration of intracellular secretory acute phase response proteins expressed in human hepatocyte induced by exposure with interleukin-6.** *Cytokine* 2012, **59**(2):317–323.
351. Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T: **The paradigm of IL-6: from basic science to medicine.** *Arthritis Res.* 2002, **4 Suppl 3**:S233-42.
352. Ndung'u JM, Eckersall PD, Jennings FW: **Elevation of the concentration of acute phase proteins in dogs infected with Trypanosoma brucei.** *Acta Trop.* 1991, **49**(2):77–86.
353. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T: **Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein.** *Blood* 2003, **101**(7):2461–2463.
354. Nevill B, Leisewitz A, Goddard A, Thompson P: **An evaluation of changes over time in serum creatine kinase activity and C-reactive protein concentration in dogs undergoing hemilaminectomy or ovariohysterectomy.** *J S Afr Vet Assoc* 2010, **81**(1):22–26.
355. Nguyenba TP, Tobias AH: **Minimally invasive per-catheter patent ductus arteriosus occlusion in dogs using a prototype duct occluder.** *J. Vet. Intern. Med.* 2008, **22**(1):129–134.
356. Nguyen-Vermillion A, Juul SE, McPherson RJ, Ledbetter DJ: **Time Course of C-Reactive Protein and Inflammatory Mediators after Neonatal Surgery.** *The Journal of Pediatrics* 2011, **159**(1):121–126.
357. Nielsen L, Toft N, Eckersall PD, Mellor DJ, Morris JS: **Serum C-reactive protein concentration as an indicator of remission status in dogs with multicentric lymphoma.** *J Vet Intern Med* 2007, **21**(6):1231–1236.
358. Nivy R, Caldin M, Lavy E, Shaabon K, Segev G, Aroch I: **Serum acute phase protein concentrations in dogs with spirocercosis and their association with esophageal neoplasia - a prospective cohort study.** *Vet. Parasitol.* 2014, **203**(1-2):153–159.
359. Nomura A, Yasuda H, Kobayashi T, Kishino S, Kohri N, Iseki K, Miyazaki K: **Serum alpha-1-acid glycoprotein and protein binding of disopyramide in patients with congestive heart failure.** *Eur J Clin Pharmacol* 1992, **42**(1):115–116.
360. Ogilvie GK, Fettman MJ, Mallinckrodt CH, Walton JA, Hansen RA, Davenport DJ, Gross KL, Richardson KL, Rogers Q, Hand MS: **Effect of fish oil, arginine, and doxorubicin chemotherapy on remission and survival time for dogs with lymphoma: a double-blind, randomized placebo-controlled study.** *Cancer* 2000, **88**(8):1916–1928.

-
361. Ogilvie GK, Walters LM, Greeley SG, Henkel SE, Salman MD: **Concentration of alpha 1-acid glycoprotein in dogs with malignant neoplasia.** *J Am Vet Med Assoc* 1993, **203**(8):1144–1146.
362. Ohno K, Yokoyama Y, Nakashima K, Setoguchi A, Fujino Y, Tsujimoto H: **C-reactive protein concentration in canine idiopathic polyarthritis.** *J Vet Med Sci* 2006, **68**(12):1275–1279.
363. Ohwada K, Tamura K: **Usefulness of alpha 1 acid glycoprotein (alpha 1-AG) values in screening pound dogs acquired from animal shelters for experimental use.** *Jikken Dobutsu* 1993, **42**(4):627–630.
364. Oliveira P, Domenech O, Silva J, Vannini S, Bussadori R, Bussadori C: **Retrospective Review of Congenital Heart Disease in 976 Dogs.** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2011, **25**(3):477–483.
365. Oliveira STd, Messick JB, Biondo AW, Santos APd, Guimarães AMS, Mohamed AS, Pires Neto JAS, Dalmolin ML, Diaz Gonzalez FH: **Serum and urinary C-reactive protein concentrations in dogs with leptospirosis.** *Acta scientiae veterinariae. Porto Alegre, RS. Vol. 38, n. 3 (2010), p. 245-249* 2010.
366. Otabe K, Ito T, Sugimoto T, Yamamoto S: **C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury.** *Lab Anim* 2000, **34**(4):434–438.
367. Otabe K, Sugimoto T, Jinbo T, Honda M, Kitao S, Hayashi S, Shimizu M, Yamamoto S: **Physiological levels of C-reactive protein in normal canine sera.** *Vet Res Commun* 1998, **22**(2):77–85.
368. OWEN JA, BETTER FC, HOBAN J: **A simple method for the determination of serum haptoglobins.** *J Clin Pathol* 1960, **13**:163–164.
369. Palsgaard-Van Lue A, Jensen AL, Strom H, Kristensen AT: **Comparative analysis of haematological, haemostatic, and inflammatory parameters in canine venous and arterial blood samples.** *Vet J* 2007, **173**(3):664–668.
370. Paltrinieri S: **Early biomarkers of inflammation in dogs and cats: the acute phase proteins.** *Vet Res Commun* 2007, **31 Suppl 1**:125–129.
371. Paltrinieri S: **The feline acute phase reaction.** *Vet J* 2008, **177**(1):26–35.
372. Pantchev N: **C-reactive protein as a marker in canine granulocytic anaplasmosis.** *Veterinary Record* 2010, **166**(20):632.

373. Parra MD, Ceron JJ: **Effects of haemolysis, lipaemia and bilirubinaemia in canine C-reactive protein and haptoglobin determination by time-resolved fluorometry: short communication.** *Acta Vet Hung* 2007, **55**(3):295–299.
374. Parra MD, Papasouliotis K, Ceron JJ: **Concentrations of C-reactive protein in effusions in dogs.** *Vet Rec* 2006, **158**(22):753–757.
375. Parra MD, Tecles F, Martinez-Subiela S, Ceron JJ: **C-reactive protein measurement in canine saliva.** *J Vet Diagn Invest* 2005, **17**(2):139–144.
376. Parra MD, Tuomola M, Cabezas-Herrera J, Ceron JJ: **Use of a time-resolved immunofluorometric assay for determination of canine C-reactive protein concentrations in whole blood.** *Am J Vet Res* 2005, **66**(1):62–66.
377. Parra MD, Tuomola M, Cabezas-Herrera J, Ceron JJ: **Analytical and clinical validation of a time-resolved immunofluorometric assay (TR-IFMA) for canine C-reactive protein in serum.** *Vet Res Commun* 2006, **30**(2):113–126.
378. Parra MD, Vaisanen V, Ceron JJ: **Development of a time-resolved fluorometry based immunoassay for the determination of canine haptoglobin in various body fluids.** *Vet Res* 2005, **36**(1):117–129.
379. Patterson DF: **Epidemiologic and Genetic Studies of Congenital Heart Disease in the Dog.** *Circulation Research* 1968, **23**(2):171–202.
380. Pepys MB: **C-reactive protein fifty years on.** *Lancet* 1981, **1**(8221):653–657.
381. Pepys MB, Baltz ML: **Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein.** *Adv Immunol* 1983, **34**:141–212.
382. Pepys MB, Hirschfield GM: **C-reactive protein: a critical update.** *J. Clin. Invest.* 2003, **111**(12):1805–1812.
383. Petersen HH, Nielsen JP, Heegaard PMH: **Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry.** *Vet Res* 2004, **35**(2):163–187.
384. PETERS JH, ALPER CA: **Haptoglobin synthesis. II. Cellular localization studies.** *J Clin Invest* 1966, **45**(3):314–320.
385. Piercy DW: **Acute phase responses to experimental salmonellosis in calves and colibacillosis in chickens: serum iron and caeruloplasmin.** *J. Comp. Pathol.* 1979, **89**(3):309–319.
386. Planellas M, Bassols A, Siracusa C, Saco Y, Giménez M, Pato R, Pastor J: **Evaluation of serum haptoglobin and C-reactive protein in dogs with mammary tumors.** *Veterinary Clinical Pathology* 2009, **38**(3):348–352.

-
387. Plickert HD, Einspanier R, Arndt G, Brunnberg L, Kohn B: **Evaluation of a point-of-care test for canine C-reactive protein.** *Veterinary Clinical Pathology* 2011, **40**(3):384–388.
388. Polizopoulou ZS, Koutinas CK, Cerón JJ, Tvarijonaviciute A, Martínez-Subiela S, Dasopoulou A, York MJ, Roman IF, Gandhi M, Patel S, O'Brien PJ: **Correlation of serum cardiac troponin I and acute phase protein concentrations with clinical staging in dogs with degenerative mitral valve disease.** *Vet Clin Pathol* 2015.
389. Polonovski M JMF: **Sur la préparation d'une nouvelle fraction des protéines plasmatiques l'haptoglobine.** *Compt Rend Acad Sci*, **1940**(211):517–519.
390. Porstmann W, Wierny L, Warnke H: **Closure of persistent ductus arteriosus without thoracotomy.** *Ger Med Mon* 1967, **12**(6):259–261.
391. Prabhu SD: **Cytokine-induced modulation of cardiac function.** *Circ Res* 2004, **95**(12):1140–1153.
392. Raila J, Schweigert FJ, Kohn B: **C-reactive protein concentrations in serum of dogs with naturally occurring renal disease.** *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2011, **23**(4):710–715.
393. Re S, Zanoletti M, Emanuele E: **Association of inflammatory markers elevation with aggressive behavior in domestic dogs.** *Journal of ethology* 2009, **27**(1):31–33.
394. Ricci R, Jeusette I, Godeau J, Contiero B, Diez M: **Effect of short-chain fructooligosaccharide-enriched energy-restricted diet on weight loss and serum haptoglobin concentration in Beagle dogs.** *Br J Nutr* 2011, **106**(S1):S120.
395. Rick AF de, Belpaire FM, Dello C, Bogaert MG: **Influence of enhanced alpha-1-acid glycoprotein concentration on protein binding, pharmacokinetics and antiarrhythmic effect of lidocaine in the dog.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1987, **241**(1):289–293.
396. Ridker PM: **Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention.** *Circulation* 2003, **107**(3):363–369.
397. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH: **Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease.** *Circulation* 1998, **97**(5):425–428.
398. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N: **C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women.** *N Engl J Med* 2000, **342**(12):836–843.

-
399. Rikihisa Y, Yamamoto S, Kwak I, Iqbal Z, Kociba G, Mott J, Chichanasiriwithaya W: **C-reactive protein and alpha 1-acid glycoprotein levels in dogs infected with Ehrlichia canis.** *J Clin Microbiol* 1994, **32**(4):912–917.
400. Riley RF, Coleman MK: **Isolation of C-reactive proteins of man, monkey, rabbit and dog by affinity chromatography on phosphorylated cellulose.** *Clin Chim Acta* 1970, **30**(2):483–496.
401. Riley RF, Zontine W: **Further observations on the properties of dog C-reactive protein and the C-reactive protein response in the dog.** *J. Lab. Clin. Med.* 1972, **80**(5):698–703.
402. Ristic JM, Marin CJ, Baines EA, Herrtage ME: **Congenital Pulmonic Stenosis a Retrospective study of 24 cases seen between 1990–1999.** *Journal of Veterinary Cardiology* 2001, **3**(2):13–19.
403. Rodriguez W, Mold C, Kataranovski M, Hutt JA, Marnell LL, Verbeek JS, Du Clos TW: **C-Reactive Protein-Mediated Suppression of Nephrotoxic Nephritis: Role of Macrophages, Complement, and Fc Receptors.** *The Journal of Immunology* 2006, **178**(1):530–538.
404. Rory Bell: **Acute Phase Proteins in Canine Medicine;** 2011.
405. Rose S, Baumann H, Jahreis GP, Sayeed MM: **Diltiazem and superoxide dismutase modulate hepatic acute phase response in gram-negative sepsis.** *Shock* 1994, **1**(2):87–93.
406. Rossbacher J, Wagner L, Pasternack MS: **Inhibitory effect of haptoglobin on granulocyte chemotaxis, phagocytosis and bactericidal activity.** *Scand. J. Immunol.* 1999, **50**(4):399–404.
407. Rubel C, Fernández GC, Dran G, Bompadre MB, Isturiz MA, Palermo MS: **Fibrinogen promotes neutrophil activation and delays apoptosis.** *J. Immunol.* 2001, **166**(3):2002–2010.
408. Rudoler N, Harrus S, Martinez-Subiela S, Tvarijonaviciute A, van Straten M, Cerón JJ, Baneth G: **Comparison of the acute phase protein and antioxidant responses in dogs vaccinated against canine monocytic ehrlichiosis and naive-challenged dogs.** *Parasit Vectors* 2015, **8**:175.
409. Rush JE, Lee ND, Freeman LM, Brewer B: **C-reactive protein concentration in dogs with chronic valvular disease.** *J Vet Intern Med* 2006, **20**(3):635–639.
410. Samokyszyn VM, Miller DM, Reif DW, Aust SD: **Inhibition of superoxide and ferritin-dependent lipid peroxidation by ceruloplasmin.** *J. Biol. Chem.* 1989, **264**(1):21–26.
411. Sanchez-Margalet V, Cubero JM, Martin-Romero C, Cubero J, Cruz-Fernandez JM, Goberna R: **Inflammatory response to coronary stent implantation in patients with unstable angina.** *Clin Chem Lab Med* 2002, **40**(8):769–774.
412. Sasanelli M, Paradies P, Caprariis D de, Greco B, Palo P de, Palmisano D, Carelli G: **Acute-phase proteins in dogs naturally infected with Leishmania infantum during and after long-term therapy with allopurinol.** *Vet Res Commun* 2007, **31** Suppl 1:335–338.

-
413. Saunders AB, Gordon SG, Boggess MM, Miller MW: **Long-term outcome in dogs with patent ductus arteriosus: 520 cases (1994-2009).** *J. Vet. Intern. Med.* 2014, **28**(2):401–410.
414. Saunders AB, Hanzlicek AS, Martinez EA, Stickney MJ, Steiner JM, Suchodolski JS, Fosgate GT: **Assessment of cardiac troponin I and C-reactive protein concentrations associated with anesthetic protocols using sevoflurane or a combination of fentanyl, midazolam, and sevoflurane in dogs.** *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 2009, **36**(5):449–456.
415. Saunders AB, Smith BE, Fosgate GT, Suchodolski JS, Steiner JM: **Cardiac troponin I and C-reactive protein concentrations in dogs with severe pulmonic stenosis before and after balloon valvuloplasty.** *Journal of Veterinary Cardiology* 2009, **11**(1):9–16.
416. Schetters T, Kleuskens J, van de Crommert J, Leeuw P de, Finizio A, Gorenflot A: **Systemic inflammatory responses in dogs experimentally infected with *Babesia canis*; a haematological study.** *Veterinary Parasitology* 2009, **162**(1-2):7–15.
417. Schneider M, Hildebrandt N, Schweigl T, Schneider I, Hagel KH, Neu H: **Transvenous embolization of small patent ductus arteriosus with single detachable coils in dogs.** *J Vet Intern Med* 2001, **15**(3):222–228.
418. Schneider M, Hildebrandt N, Schweigl T, Wehner M: **Transthoracic echocardiographic measurement of patent ductus arteriosus in dogs.** *J. Vet. Intern. Med.* 2007, **21**(2):251–257.
419. Schneider M, Schneider I, Hildebrandt N, Wehner M: **Percutaneous angiography of Patent Ductus Arteriosus in dogs: techniques, results and implications for intravascular occlusion.** *Journal of Veterinary Cardiology* 2003, **5**(2):21–27.
420. Schneider M, Schneider I, Neu H: **Feasibility of sonography in the diagnosis of congenital heart diseases in dogs.** *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 1998, **26**(3):170–179.
421. Schrope DP: **Balloon valvuloplasty of valvular pulmonic stenosis in the dog.** *Clin Tech Small Anim Pract* 2005, **20**(3):182–195.
422. Schuessler RB, Ishii Y, Khagi Y, Diabagate K, Boineau JP, Damiano RJ: **The effects of inflammation on heart rate and rhythm in a canine model of cardiac surgery.** *Heart Rhythm* 2012, **9**(3):432–439.
423. Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, Tobias PS, Ulevitch RJ: **Structure and function of lipopolysaccharide binding protein.** *Science* 1990, **249**(4975):1429–1431.

-
424. Selcuk MT, Selcuk H, Maden O, Temizhan A, Aksu T, Dogan M, Sasmaz A: **Relationship between inflammation and atrial fibrillation in patients with isolated rheumatic mitral stenosis.** *J Heart Valve Dis* 2007, **16**(5):468–474.
425. Sellar GC, DeBeer MC, Lelias JM, Snyder PW, Glickman LT, Felsburg PJ, Whitehead AS: **Dog serum amyloid A protein. Identification of multiple isoforms defined by cDNA and protein analyses.** *J. Biol. Chem.* 1991, **266**(6):3505–3510.
426. Sellar GC, Keane J, Mehdi H, Peebles ME, Browne N, Whitehead AS: **Characterization and acute phase modulation of canine apolipoprotein H (beta 2-glycoprotein I).** *Biochem Biophys Res Commun* 1993, **191**(3):1288–1293.
427. Sellmayer A, Limmert T, Hoffmann U: **High sensitivity C-reactive protein in cardiovascular risk assessment. CRP mania or useful screening?** *Int Angiol* 2003, **22**(1):15–23.
428. Seo K, Lee J, Ahn J, Lee H, Hwang C, Youn H, Lee C: **C-reactive protein as an indicator of inflammatory responses to experimentally induced cystitis in dogs.** *J. Vet. Sci.* 2012, **13**(2):179–185.
429. Serin G, Ulutas PA: **Measurement of serum acute phase proteins to monitor postoperative recovery in anoestrous bitches after ovariohysterectomy.** *Veterinary Record* 2010, **166**(1):20–22.
430. Sevelius E, Andersson M: **Serum protein electrophoresis as a prognostic marker of chronic liver disease in dogs.** *Vet. Rec.* 1995, **137**(26):663–667.
431. Sheahan D, Bell R, Mellanby RJ, Gow AG, Friend E, Heller J, Bence LM, Eckersall PD: **Acute phase protein concentrations in dogs with nasal disease.** *Veterinary Record* 2010, **167**(23):895–899.
432. Shih AC, Maisenbacher HW, Barreirinha A, Adin DB, Schmidt MK, Prošek R, Estrada AH: **Effect of routine cardiovascular catheterization on cardiac troponin I concentration in dogs.** *Journal of Veterinary Cardiology* 2009, **11**:S87.
433. Shimada T, Ishida Y, Shimizu M, Nomura M, Kawato K, Iguchi K, Jinbo T: **Monitoring C-reactive protein in beagle dogs experimentally inoculated with Ehrlichia canis.** *Vet Res Commun* 2002, **26**(3):171–177.
434. Singh MK, Kittleson MD, Kass PH, Griffiths LG: **Occlusion Devices and Approaches in Canine Patent Ductus Arteriosus: Comparison of Outcomes.** *J Vet Intern Med* 2012, **26**(1):85–92.

-
435. Siracusa C, Manteca X, Cerón J, Martínez-Subiela S, Cuenca R, Lavín S, Garcia F, Pastor J: **Perioperative stress response in dogs undergoing elective surgery: variations in behavioural, neuroendocrine, immune and acute phase responses.** *Animal Welfare* 2008, **17**(3):259–273.
436. Skinner JG: **International standardization of acute phase proteins.** *Vet Clin Pathol* 2001, **30**(1):2–7.
437. Slavov E, Georgieva TM, Andonova M, Urumova V, Girginov D, Dzhelebov P: **Blood C reactive protein (CRP) and fibrinogen concentrations during staphylococcal experimental infection in obese dogs.** *REVUE DE MEDECINE VETERINAIRE* 2011, **162**(12):599–603.
438. Smeets MB, Sluijter JPG, Donners MMPC, Velema E, Heeneman S, Pasterkamp G, Kleijn DPV de: **Increased arterial expression of a glycosylated haptoglobin isoform after balloon dilation.** *Cardiovasc. Res.* 2003, **58**(3):689–695.
439. Solter PF, Hoffmann WE, Hungerford LL, Siegel JP, St Denis SH, Dorner JL: **Haptoglobin and ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs.** *Am. J. Vet. Res.* 1991, **52**(10):1738–1742.
440. Son DS, Osabe M, Shimoda M, Kokue E: **Contribution of alpha 1-acid glycoprotein to species difference in lincosamides-plasma protein binding kinetics.** *J Vet Pharmacol Ther* 1998, **21**(1):34–40.
441. Spoo JW, Downey RL, Griffiths C, Horst RJ, Levine CB, Childs RM, Wakshlag JJ: **Plasma vitamin D metabolites and C-reactive protein in stage-stop racing endurance sled dogs.** *J. Vet. Intern. Med.* 2015, **29**(2):519–525.
442. Stafford-Johnson M: **Decision making in suspected congenital heart disease in dogs and cats.** *In Practice* 2006, **28**(9):538–543.
443. Suankratay C, Mold C, Zhang Y, Potempa LA, Lint TF, Gewurz H: **Complement regulation in innate immunity and the acute-phase response: inhibition of mannan-binding lectin-initiated complement cytolysis by C-reactive protein (CRP).** *Clin. Exp. Immunol.* 1998, **113**(3):353–359.
444. Surya Prabha P, Padma T, Ramaswamy M: **Haptoglobin patterns in essential hypertension and associated conditions--increased risk for Hp 2-2.** *Hum. Hered.* 1987, **37**(6):345–348.
445. Suzuki K, Wakabayashi H, Takahashi M, Fukushima K, Yabuki A, Endo Y: **A Possible treatment strategy and clinical factors to estimate the treatment response in *Bebesia gibsoni* infection.** *J Vet Med Sci* 2007, **69**(5):563–568.
446. Szalai AJ, Agrawal A, Greenhough TJ, Volanakis JE: **C-reactive protein: structural biology, gene expression, and host defense function.** *Immunol. Res.* 1997, **16**(2):127–136.

-
447. Szalai AJ, Agrawal A, Greenhough TJ, Volanakis JE: **C-reactive protein: structural biology and host defense function.** *Clin Chem Lab Med* 1999, **37**(3):265–270.
448. Szalai AJ, McCrory MA: **Varied biologic functions of C-reactive protein: lessons learned from transgenic mice.** *Immunol Res* 2002, **26**(1-3):279–287.
449. T. Andus: **Interleukin-6: ein Schlüsselhormon der Akutphase-Reaktion.**
450. Tagata K, Yokoyama S, Ginbo T, Honda M, Okimura T, Odakura M, Nomura M, Yamamoto S: **Quantitative capillary reversed passive latex agglutination test for C-reactive protein (CRP) in the dog.** *Vet. Res. Commun.* 1996, **20**(1):21–30.
451. Taga T, Kishimoto T: **Cytokine receptors and signal transduction.** *FASEB J* 1992, **6**(15):3387–3396.
452. Taga T, Kishimoto T: **Gp130 and the interleukin-6 family of cytokines.** *Annu Rev Immunol* 1997, **15**:797–819.
453. Taira T, Fujinaga T, Okumura M, Yamashita K, Tsunoda N, Mizuno S: **Equine haptoglobin: isolation, characterization, and the effects of ageing, delivery and inflammation on its serum concentration.** *J. Vet. Med. Sci.* 1992, **54**(3):435–442.
454. Tanaka R, Soda A, Saida Y, Sugihara K, Takashima K, Shibasaki A, Yamane Y: **Evaluation of the efficacy and safety of coil occlusion for patent ductus arteriosus in dogs.** *J Vet Med Sci* 2007, **69**(8):857–859.
455. Tataru MC, Heinrich J, Junker R, Schulte H, Eckardstein A von, Assmann G, Koehler E: **C-reactive protein and the severity of atherosclerosis in myocardial infarction patients with stable angina pectoris.** *Eur Heart J* 2000, **21**(12):1000–1008.
456. Tecles F, Caldin M, Zanella A, Membiela F, Tvarijonaviciute A, Subiela SM, Ceron JJ: **Serum acute phase protein concentrations in female dogs with mammary tumors.** *J Vet Diagn Invest* 2009, **21**(2):214–219.
457. Tecles F, Spiranelli E, Bonfanti U, Ceron JJ, Paltrinieri S: **Preliminary studies of serum acute-phase protein concentrations in hematologic and neoplastic diseases of the dog.** *J Vet Intern Med* 2005, **19**(6):865–870.
458. Tecles F, Subiela SM, Petrucci G, Panizo CG, Ceron JJ: **Validation of a commercially available human immunoturbidimetric assay for haptoglobin determination in canine serum samples.** *Vet Res Commun* 2007, **31**(1):23–36.

-
459. Thougard AV, Hellmen E, Pedersen HD, Jensen AL: **Correlation between alpha 1-acid glycoprotein and total sialic acid in serum from dogs with tumours.** *Zentralbl Veterinarmed A* 1999, **46**(4):231–237.
460. Tidholm A: **Retrospective study of congenital heart defects in 151 dogs.** *J Small Anim Pract* 1997, **38**(3):94–98.
461. Tilg H, Dinarello CA, Mier JW: **IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators.** *Immunol. Today* 1997, **18**(9):428–432.
462. Tillett WS, Francis T: **Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus.** *J Exp Med* 1930, **52**(4):561–571.
463. Tobias AH, Stauthammer CD: **Minimally Invasive Per-Catheter Occlusion and Dilation Procedures for Congenital Cardiovascular Abnormalities in Dogs.** *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 2010, **40**(4):581–603.
464. Torrente C, Manzanilla EG, Bosch L, Fresno L, Rivera Del Alamo M, Andaluz A, Saco Y, Ruiz de Gopegui R: **Plasma iron, C-reactive protein, albumin, and plasma fibrinogen concentrations in dogs with systemic inflammatory response syndrome.** *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 2015.
465. Tosa N, Morimatsu M, Nakagawa M, Miyoshi F, Uchida E, Niiyama M, Syuto B, Saito M: **Purification and identification of a serum protein increased by anthelmintic drugs for *Dirofilaria immitis* in dogs.** *J. Vet. Med. Sci.* 1993, **55**(1):27–31.
466. Tvarijonavičiute A, Eralp O, Kocaturk M, Yilmaz Z, Ceron JJ: **Adiponectin and IGF-1 are negative acute phase proteins in a dog model of acute endotoxaemia.** *Vet Immunol Immunopathol* 2011, **140**(1-2):147–151.
467. Tvarijonavičiute A, Martinez S, Gutierrez A, Ceron JJ, Tecles F: **Serum acute phase proteins concentrations in dogs during experimentally short-term induced overweight. A preliminary study.** *Research in Veterinary Science* 2011, **90**(1):31–34.
468. Ucer E, Gungor B, Erdinler IC, Akyol A, Alper AT, Eksik A, Cakmak N, Gurkan K, Ulufer T: **High sensitivity CRP levels predict atrial tachyarrhythmias in rheumatic mitral stenosis.** *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2008, **13**(1):31–38.
469. Uhlar CM, Whitehead AS: **Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant.** *Eur. J. Biochem.* 1999, **265**(2):501–523.
470. Uhl N, Hunstein W, Kluthe R: **Serum-Haptoglobin als Indikator chronischer Hämolyse vor oder nach operativer Korrektur von Herzfehlern.** *Arch Klin Med* 1968, **215**(2):133–149.

-
471. Ulutas B, Bayramli G, Ulutas PA, Karagenc T: **Serum concentration of some acute phase proteins in naturally occurring canine babesiosis: a preliminary study.** *Vet Clin Pathol* 2005, **34**(2):144–147.
472. Ulutas B, Ural K, Ulutas PA: **Acute phase response with special reference to C-reactive protein in dogs with generalized demodicosis.** *Acta Scientiae Veterinariae* 2011, **39**(3):980.
473. Ulutas PA, Musal B, Kiral F, Bildik A: **Acute phase protein levels in pregnancy and oestrus cycle in bitches.** *Research in Veterinary Science* 2009, **86**(3):373–376.
474. Urieli-Shoval S, Linke RP, Matzner Y: **Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states.** *Curr. Opin. Hematol.* 2000, **7**(1):64–69.
475. van Dielen FM, van't Veer C, Schols AM, Soeters PB, Buurman WA, Greve JW: **Increased leptin concentrations correlate with increased concentrations of inflammatory markers in morbidly obese individuals.** *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2001, **25**(12):1759–1766.
476. van Israel N, Dukes-McEwan J, French AT: **Long-term follow-up of dogs with patent ductus arteriosus.** *J Small Anim Pract* 2003, **44**(11):480–490.
477. van Israël N, French AT, Dukes-McEwan J, Corcoran BM: **Review of left-to-right shunting patent ductus arteriosus and short term outcome in 98 dogs.** *J Small Anim Pract* 2002, **43**(9):395–400.
478. van Miert AS, van Duin CT, Wensing T: **Fever and acute phase response induced in dwarf goats by endotoxin and bovine and human recombinant tumour necrosis factor alpha.** *J Vet Pharmacol Ther* 1992, **15**(4):332–342.
479. Vannucchi CI, Mirandola RM, Oliveira CM: **Acute-phase protein profile during gestation and diestrous: proposal for an early pregnancy test in bitches.** *Anim Reprod Sci* 2002, **74**(1-2):87–99.
480. Veiga APM, Price CA, Oliveira ST de, Dos Santos AP, Campos R, Barbosa PR, González FHD: **Association of canine obesity with reduced serum levels of C-reactive protein.** *J. Vet. Diagn. Invest.* 2008, **20**(2):224–228.
481. Venco L, Bertazzolo W, Giordano G, Paltrinieri S: **Evaluation of C-reactive protein as a clinical biomarker in naturally heartworm-infected dogs: a field study.** *Vet. Parasitol.* 2014, **206**(1-2):48–54.
482. Venugopal SK, Devaraj S, Jialal I: **C-reactive protein decreases prostacyclin release from human aortic endothelial cells.** *Circulation* 2003, **108**(14):1676–1678.

-
483. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I: **Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells.** *Circulation* 2002, **106**(12):1439–1441.
484. Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN: **Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease.** *J. Clin. Invest.* 1993, **91**(4):1351–1357.
485. Viitanen SJ, Laurila HP, Lilja-Maula LI, Melamies MA, Rantala M, Rajamäki MM: **Serum C-reactive protein as a diagnostic biomarker in dogs with bacterial respiratory diseases.** *J. Vet. Intern. Med.* 2014, **28**(1):84–91.
486. Vilcek J: **From IFN to TNF: a journey into realms of lore.** *Nat Immunol* 2009, **10**(6):555–557.
487. Vilcek J, Lee TH: **Tumor necrosis factor. New insights into the molecular mechanisms of its multiple actions.** *J Biol Chem* 1991, **266**(12):7313–7316.
488. Vilcek J, Palombella VJ, Zhang Y, Lin JX, Feinman R, Reis LF, Le J: **Mechanisms and significance of the mitogenic and antiviral actions of TNF.** *Ann Inst Pasteur Immunol* 1988, **139**(3):307–311.
489. Vilcek JT: **Cytokines in 1995.** *Cytokine Growth Factor Rev.* 1996, **7**(1):103–106.
490. Volanakis JE, Kaplan MH: **Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide.** *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1971, **136**(2):612–614.
491. Volanakis JE, Kaplan MH: **Interaction of C-reactive protein complexes with the complement system. II. Consumption of guinea pig complement by CRP complexes: requirement for human C1q.** *J. Immunol.* 1974, **113**(1):9–17.
492. Vreugdenhil AC, Dentener MA, Snoek AM, Greve JW, Buurman WA: **Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response.** *J. Immunol.* 1999, **163**(5):2792–2798.
493. Waal Malefyt R de, Yssel H, Roncarolo MG, Spits H, Vries JE de: **Interleukin-10.** *Curr Opin Immunol* 1992, **4**(3):314–320.
494. Wakshlag JJ, Struble AM, Levine CB, Bushey JJ, Laflamme DP, Long GM: **The effects of weight loss on adipokines and markers of inflammation in dogs.** *Br J Nutr* 2011, **106** Suppl 1:S11-4.
495. Wakshlag J, Kraus M, Gelzer A, Downey R, Vacchani P: **The Influence of High-Intensity Moderate Duration Exercise on Cardiac Troponin I and C-Reactive Protein in Sled Dogs.** *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2010, **24**(6):1388–1392.
496. Wang C, Li S, Weisel RD, Fedak PWM, Dumont AS, Szmítko P, Li R, Mickle DAG, Verma S: **C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle.** *Circulation* 2003, **107**(13):1783–1790.

-
497. Wang Y, Kinzie E, Berger FG, Lim SK, Baumann H: **Haptoglobin, an inflammation-inducible plasma protein.** *Redox Rep* 2001, **6**(6):379–385.
498. Watanabe M, Oikawa T, Hiraoka H, Kaneko N, Itamoto K, Mizuno T, Okuda M, Inokuma H: **Experimental inoculation of beagle dogs with Ehrlichia species detected from Ixodes ovatus.** *Vet Parasitol* 2006, **136**(2):147–154.
499. Weber A, Weber AT, McDonald TL, Larson MA: **Staphylococcus aureus lipotechoic acid induces differential expression of bovine serum amyloid A3 (SAA3) by mammary epithelial cells: Implications for early diagnosis of mastitis.** *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006, **109**(1-2):79–83.
500. Wegenka UM, Buschmann J, Lütticken C, Heinrich PC, Horn F: **Acute-phase response factor, a nuclear factor binding to acute-phase response elements, is rapidly activated by interleukin-6 at the posttranslational level.** *Mol. Cell. Biol.* 1993, **13**(1):276–288.
501. Weidmeyer CE, Solter PF: **Validation of human haptoglobin immunoturbidimetric assay for detection of haptoglobin in equine and canine serum and plasma.** *Vet Clin Pathol* 1996, **25**(4):141–146.
502. Weiss DJ, Ramaiah SK; Walcheck B: **Neutrophil Distribution and Function.** In: *Schalm's veterinary hematology*, 6th ed, Weiss&Wardrop, Wiley-Blackwell, 2010, Chapter 41 S. 268-275.
503. Eric A: **Interpretation of Canine Leukocyte responses.** In: *Schalm's veterinary hematology*, 6th ed, Weiss&Wardrop, Wiley-Blackwell, 2010, Chapter 48 S. 321-335
504. Westhuyzen J, Healy H: **Review: Biology and relevance of C-reactive protein in cardiovascular and renal disease.** *Ann Clin Lab Sci* 2000, **30**(2):133–143.
505. Wilson TC, Bachurski CJ, Ikegami M, Jobe AH, Kallapur SG: **Pulmonary and systemic induction of SAA3 after ventilation and endotoxin in preterm lambs.** *Pediatr. Res.* 2005, **58**(6):1204–1209.
506. Wong VM, Kidney BA, Snead EC, Myers SL, Jackson ML: **Serum C-reactive protein concentrations in healthy Miniature Schnauzer dogs.** *Veterinary Clinical Pathology* 2011, **40**(3):380–383.
507. Wood AC, Fine DM, Spier AW, Eyster GE: **Septicemia in a young dog following treatment of patent ductus arteriosus via coil occlusion.** *J Am Vet Med Assoc* 2006, **228**(12):1901–1904.
508. Xia D, Samols D: **Transgenic mice expressing rabbit C-reactive protein are resistant to endotoxemia.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997, **94**(6):2575–2580.
509. Xie H, Huff GR, Huff WE, Balog JM, Holt P, Rath NC: **Identification of ovotransferrin as an acute phase protein in chickens.** *Poult. Sci.* 2002, **81**(1):112–120.

-
510. Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, Achong MK: **IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses.** *J. Clin. Invest.* 1998, **101**(2):311–320.
511. Yamada T: **Serum amyloid A (SAA): a concise review of biology, assay methods and clinical usefulness.** *Clin Chem Lab Med* 1999, **37**(4):381–388.
512. Yamamoto S, Miyaji S, Abe N, Otabe K, Furukawa E, Naiki M: **Canine C-reactive protein (CRP) does not share common antigenicity with human CRP.** *Vet Res Commun* 1993, **17**(4):259–266.
513. Yamamoto S, Miyaji S, Ashida Y, Otabe K, Momotani E, Rikihisa Y: **Preparation of anti-canine serum amyloid A (SAA) serum and purification of SAA from canine high-density lipoprotein.** *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1994, **41**(1-2):41–53.
514. Yamamoto S, Shida T, Honda M, Ashida Y, Rikihisa Y, Odakura M, Hayashi S, Nomura M, Isayama Y: **Serum C-reactive protein and immune responses in dogs inoculated with Bordetella bronchiseptica (phase I cells).** *Vet Res Commun* 1994, **18**(5):347–357.
515. Yamamoto S, Shida T, Miyaji S, Santsuka H, Fujise H, Mukawa K, Furukawa E, Nagae T, Naiki M: **Changes in serum C-reactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas.** *Vet Res Commun* 1993, **17**(2):85–93.
516. Yamamoto S, Shida T, Okimura T, Otabe K, Honda M, Ashida Y, Furukawa E, Sarikaputi M, Naiki M: **Determination of C-reactive protein in serum and plasma from healthy dogs and dogs with pneumonia by ELISA and slide reversed passive latex agglutination test.** *Vet Q* 1994, **16**(2):74–77.
517. Yamamoto S, Tagata K, Nagahata H, Ishikawa Y, Morimatsu M, Naiki M: **Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties.** *Vet Immunol Immunopathol* 1992, **30**(4):329–339.
518. Yamashita K, Fujinaga T, Miyamoto T, Hagio M, Izumisawa Y, Kotani T: **Canine acute phase response: relationship between serum cytokine activity and acute phase protein in dogs.** *J Vet Med Sci* 1994, **56**(3):487–492.
519. Yazwinski M, Milizio JG, Wakshlag JJ: **Assessment of serum myokines and markers of inflammation associated with exercise in endurance racing sled dogs.** *J. Vet. Intern. Med.* 2013, **27**(2):371–376.
520. Yeh ET, Anderson HV, Pasceri V, Willerson JT: **C-reactive protein: linking inflammation to cardiovascular complications.** *Circulation* 2001, **104**(9):974–975.

-
521. Yuki M, Itoh H, Takase K: **Serum α -1-acid glycoprotein concentration in clinically healthy puppies and adult dogs and in dogs with various diseases.** *Veterinary Clinical Pathology* 2010, **39**(1):65–71.
522. Yuki M, Itoh H, Tamura K, Nishii N, Takase K: **Isolation, characterization and quantitation of canine alpha-1-acid glycoprotein.** *Vet Res Commun* 2008, **32**(7):533–542.
523. Yuki M, Machida N, Sawano T, Itoh H: **Investigation of serum concentrations and immunohistochemical localization of α 1-acid glycoprotein in tumor dogs.** *Vet Res Commun* 2011, **35**(1):1–11.
524. Yule TD, Roth MB, Dreier K, Johnson AF, Palmer-Densmore M, Simmons K, Fanton R: **Canine parvovirus vaccine elicits protection from the inflammatory and clinical consequences of the disease.** *Vaccine* 1997, **15**(6-7):720–729.
525. Zaldivar-Lopez S, Mesa-Sanchez I, Galan-Rodriguez A, Ceron JJ, Martinez-Subiela S, Granados-Machuca MM, Couto CG: **Haptoglobin concentration in galgos and greyhounds.** *Veterinary Record* 2012, **170**(19):496.
526. Zhong W, Zen Q, Tebo J, Schlottmann K, Coggeshall M, Mortensen RF: **Effect of human C-reactive protein on chemokine and chemotactic factor-induced neutrophil chemotaxis and signaling.** *J Immunol* 1998, **161**(5):2533–2540.
527. Zois NE, Moesgaard SG, Kjelgaard-Hansen M, Rasmussen CE, Falk T, Fossing C, Haggstrom J, Pedersen HD, Olsen LH: **Circulating cytokine concentrations in dogs with different degrees of myxomatous mitral valve disease.** *Vet J* 2012, **192**(1):106–111.
528. Zwahlen RD, Spreng D, Wyder-Walther M: **In vitro and in vivo activity of human interleukin-8 in dogs.** *Vet Pathol* 1994, **31**(1):61–66.

8 ANHANG

8.1 Tabelle mit Rohdaten

Tabelle 8: Rohdaten CRP, Hp, AGP und Wbc

Hund	Zeitpunkt	Gruppe	Komplikationen	CRP (mg/l)	Hapto (mg/ml)	AGP (µg/ml)	WBC (10 ⁹ /l)
1	-1	1	Ja	4,4	0,19	380	17,1
1	0	1	Ja	6,3	0,55	280	4,9
1	1	1	Ja	31,3	0,59	380	17,9
1	2	1	ja	21,4	1,30	460	11,1
1	3	1	Ja	14,5	2,45	400	10,4
1	4	1	Ja	8,6	1,67	360	8,2
1	5	1	Ja	5,4	1,59	340	8,6
1	6	1	Ja	8,0	1,09	340	10,5
2	-1	1	Ja	0,1	0,10	540	6,7
2	0	1	Ja	0,3	0,19	400	3,6
2	1	1	Ja	41,5	0,41	600	10,3
2	2	1	Ja	39,5	1,75	840	8,7
2	3	1	Ja	20,9	1,34	840	7
2	4	1	Ja	19,4	1,12	640	5
2	5	1	Ja	7,9	0,74	560	6,2
2	6	1	Ja	4,1	0,31	500	5,8
3	-1	2	Ja	5,8	0,40	320	12,3
3	0	2	Ja	3,0	0,68	280	7,8
3	1	2	Ja	27,1	0,15	340	24
3	2	2	Ja	56,4	0,66	420	20,5
3	3	2	Ja	36,6	0,91	420	13,7
3	4	2	Ja	24,9	0,71	320	11,4
3	5	2	Ja	20,2	0,39	280	12,1
3	6	2	Ja	8,9	0,24	260	10,3
4	-1	2	Nein	1,8	2,11	180	11,3
4	0	2	Nein	0,2	1,43	120	5,5
4	1	2	Nein	55,9	2,94	260	15,3
4	2	2	Nein	36,6	2,63	520	13,3
4	3	2	Nein	19,2	4,37	500	11,3
4	4	2	Nein	8,7	3,20	520	11,7
4	5	2	Nein	4,6	3,23	520	12,3
4	6	2	Nein	6,6	2,22	400	14,8
5	-1	1	Ja	10,8	6,43	340	15,1
5	0	1	Ja	8,8	5,60	320	8,3
5	1	1	Ja	130,3	8,34	800	20,1
5	2	1	Ja	90,9	10,22	800	15,7

5	3	1	Ja	53,2	9,95	820	12,1
5	4	1	Ja	35,8	10,96	780	11
5	5	1	Ja	20,7	7,59	600	12,7
5	6	1	Ja	18,8	6,07	600	10,4
6	-1	2	Ja	9,5	0,37	600	13,2
6	0	2	Ja	5,0	0,10	460	7,8
6	1	2	Ja	24,4	0,10	640	28,8
6	2	2	Ja	39,8	1,12	800	28,4
6	3	2	Ja	24,2	1,69	880	22,2
6	4	2	Ja	29,7	2,29	840	19,5
6	5	2	Ja	20,9	3,02	800	26,4
6	6	2	Ja	19,2	2,68	720	20,7
7	-1	2	Ja	3,2	2,23	460	8,1
7	0	2	Ja	0,3	2,35	280	5
7	1	2	Ja	26,7	2,11	380	12,3
7	2	2	Ja	21,3	4,37	680	8,1
7	3	2	Ja	8,3	1,55	500	7,2
7	4	2	Ja	6,0	1,51	480	6,1
7	5	2	Ja	5,7	1,68	460	6,2
7	6	2	Ja	4,2	1,57	400	5,5
8	-1	2	Nein	2,4	1,42	260	11,3
8	0	2	Nein	3,6	0,88	240	6,9
8	1	2	Nein	57,7	0,46	460	14,9
8	2	2	Nein	36,4	0,56	400	10,5
8	3	2	Nein	27,8	0,53	440	9,2
8	4	2	Nein	20,8	0,55	440	10,8
8	5	2	Nein	19,3	0,56	360	10,1
8	6	2	Nein	12,9	0,34	400	10
9	-1	2	Nein	0,4	1,97	500	11,3
9	0	2	Nein	0,5	1,45	360	6,6
9	1	2	Nein	36,3	0,60	520	19,6
9	2	2	Nein	37,1	1,01	540	15,2
9	3	2	Nein	37,9	1,84	540	10,6
9	4	2	Nein	12,5	1,04	500	9,4
9	5	2	Nein	12,8	0,65	400	11,9
9	6	2	Nein	12,6	0,55	440	10,6
10	-1	1	Ja	9,9	0,29	360	13,3
10	0	1	Ja	8,1	0,41	340	4,6
10	1	1	Ja	62,1	0,51	440	14,8
10	2	1	Ja	75,4	1,71	620	13,8
10	3	1	Ja	52,8	4,37	600	12,3
10	4	1	Ja	37,3	2,34	720	10

10	5	1	Ja	14,1	1,99	500	12,7
10	6	1	Ja	19,1	1,83	480	11,8
11	-1	2	Ja	0,1	0,32	300	13,1
11	0	2	Ja	0,9	0,27	300	8,1
11	1	2	Ja	12,3	0,24	380	13,4
11	2	2	Ja	5,4	0,25	560	15,2
11	3	2	Ja	2,9	0,28	560	12
11	4	2	Ja	1,2	0,25	480	11,6
11	5	2	Ja	0,8	0,25	420	13,7
11	6	2	Ja	0,9	0,23	400	14,5
12	-1	1	Nein	1	0,25	300	11,4
12	0	1	Nein	0,9	0,11	280	3,4
12	1	1	Nein	46,5	1,45	660	13,1
12	2	1	Nein	36	2,4	800	11,6
12	3	1	Nein	23,4	1,9	960	11,8
12	4	1	Nein	22,2	2,04	660	11,6
12	5	1	Nein	11,4	1,78	620	10
12	6	1	Nein	7,7	0,9	660	11,8
13	-1	1	Nein	9	0,32	480	8,7
13	0	1	Nein	3,6	0,22	280	5,8
13	1	1	Nein	115,1	1,76	660	17,2
13	2	1	Nein	74,5	2,3	920	12,6
13	3	1	Nein	46,5	2,4	700	10,5
13	4	1	Nein	24,5	2,35	700	10,3
13	5	1	Nein	22,1	2,1	580	9,5
13	6	1	Nein	15,8	1,87	600	10,5
14	-1	2	Ja	0,1	0,24	840	13,3
14	0	2	Ja	13,7	0,39	440	13,7
14	1	2	Ja	26,2	0,92	560	16,2
14	2	2	Ja	15,9	2,49	560	14,2
14	3	2	Ja	9,3	2,4	1300	14,4
14	4	2	Ja	5,4	2,05	560	16,1
14	5	2	Ja	4	2,42	560	14,9
14	6	2	Ja	1,2	2,2	800	13,8
15	-1	1	Nein	3,8	0,35	240	11,8
15	0	1	Nein	2,5	0,38	180	6,4
15	1	1	Nein	72,7	0,64	380	16
15	2	1	Nein	62,4	2,21	880	12,4
15	3	1	Nein	38,8	1,86	560	11,9
15	4	1	Nein	24,5	1,49	600	11
15	5	1	Nein	18,4	1,73	540	10,5
15	6	1	Nein	14,2	1,46	500	13

16	-1	1	Nein	1	0,28	40	12,7
16	0	1	Nein	1,9	0,37	20	5,4
16	1	1	Nein	27,7	0,55	80	13,7
16	2	1	Nein	36,1	2,03	140	8,2
16	3	1	Nein	13,4	2,48	140	7,3
16	4	1	Nein	9,1	1,86	140	6,4
16	5	1	Nein	5,8	2,35	100	6,9
16	6	1	Nein	3,2	2,18	80	6,2
17	-1	2	Ja	0,1	0,25	160	7,9
17	0	2	Ja	0,1	0,24	140	4,5
17	1	2	Ja	15,2	0,27	160	8,4
17	2	2	Ja	11,4	0,43	260	9,5
17	3	2	Ja	8,1	0,57	280	8,1
17	4	2	Ja	3,4	1,64	180	8,4
17	5	2	Ja	3,1	1,94	140	8,3
17	6	2	Ja	1,2	2,03	160	7,5
18	-1	2	Nein	3,7	0,28	240	9,2
18	0	2	Nein	4,2	0,33	220	8,1
18	1	2	Nein	29,9	0,27	260	26,1
18	2	2	Nein	33,4	1,66	440	16,7
18	3	2	Nein	18,9	1,41	440	11,9
18	4	2	Nein	18,8	0,63	400	11,1
18	5	2	Nein	10	0,37	380	9
18	6	2	Nein	3,5	0,3	300	9,9
19	-1	1	Nein	3,5	0,33	340	18,4
19	0	1	Nein	2,5	0,25	300	6,2
19	1	1	Nein	41,9	1,49	460	18,4
19	2	1	Nein	24,6	2,09	560	11,3
19	3	1	Nein	15,8	2,13	500	13,3
19	4	1	Nein	3	2,02	480	11,5
19	5	1	Nein	4,7	1,1	400	11,6
19	6	1	Nein	4,2	1,7	460	12,1
20	-1	1	Ja	0,1	0,3	160	7,8
20	0	1	Ja	0,1	0,3	120	3,5
20	1	1	Ja	29,6	0,34	280	12,3
20	2	1	Ja	36,3	1,81	420	11,3
20	3	1	Ja	15,4	2,03	660	7,9
20	4	1	Ja	7,6	1,45	300	7,2
20	5	1	Ja	4,5	1,31	280	9,5
20	6	1	Ja	11,6	0,98	280	8,5

8.2 Statistische Daten

Tabelle 9: statistische Daten

Parameter	Zeitpunkt	Gruppen							
CRP		PDA-u				PDA-c			
		MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
	-1	3,66	3,267721	1,461369	5	5,06	5,148107	2,302303	5
	0	2,28	0,9859006	0,4409081	5	4,72	4,226346	1,890079	5
	1	60,78	34,45072	15,40683	5	58,96	41,9261	18,74992	5
	2	46,72	20,82419	9,312861	5	52,7	29,1437	13,03346	5
	3	27,58	14,50145	6,485245	5	31,36	19,90635	8,902392	5
	4	16,66	9,967096	4,457421	5	21,74	14,29923	6,39481	5
	5	12,48	7,647026	3,419854	5	10,52	6,814837	3,047688	5
	6	9,02	5,736898	2,565619	5	12,32	6,608858	2,955571	5
		PS-u				PS-c			
		MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
	-1	2,075	1,369611	0,6848053	4	3,133333	3,879519	1,583807	6
	0	2,125	2,067809	1,033904	4	3,833333	5,185236	2,116863	6
	1	44,95	13,94979	6,974896	4	21,98333	6,508892	2,657244	6
	2	35,875	1,676056	0,8380278	4	25,03333	19,34225	7,896441	6
	3	25,95	8,971994	4,485997	4	14,9	12,82607	5,23622	6
	4	15,2	5,593448	2,796724	4	11,76667	12,24364	4,998444	6
	5	11,675	6,117393	3,058697	4	9,116667	8,998981	3,673819	6
	6	8,9	4,623851	2,311926	4	5,933333	7,182664	2,93231	6
Hp		PDA-u				PDA-c			
		MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
	-1	0,306	0,04037326	0,01805547	5	1,462	2,778393	1,242535	5
	0	0,266	0,1123833	0,05025933	5	1,41	2,346071	1,049195	5
	1	1,178	0,5463241	0,2443236	5	2,038	3,524212	1,576076	5
	2	2,206	0,1507648	0,06742405	5	3,358	3,841233	1,717852	5
	3	2,154	0,2820993	0,1261586	5	4,028	3,496229	1,563561	5
	4	1,952	0,3133209	0,1401214	5	3,508	4,18965	1,873668	5
	5	1,812	0,4709246	0,2106039	5	2,644	2,802067	1,253123	5
	6	1,622	0,4812692	0,2152301	5	2,056	2,307744	1,032054	5
		PS-u				PS-c			
		MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
	-1	1,445	0,8318052	0,4159026	4	0,635	0,7839579	0,3200495	6
	0	1,0225	0,5318756	0,2659378	4	0,6716666	0,845066	0,3449968	6

1	1,0675	1,255637	0,6278186	4	0,6316667	0,7832602	0,3197646	6
2	1,465	0,8983875	0,4491937	4	1,553333	1,597331	0,6521077	6
3	2,0375	1,647814	0,8239071	4	1,233333	0,7903586	0,3226626	6
4	1,355	1,248586	0,624293	4	1,408333	0,785173	0,3205455	6
5	1,2025	1,356696	0,6783482	4	1,616667	1,10415	0,4507673	6
6	0,8525	0,9182366	0,4591183	4	1,491667	1,036174	0,4230163	6

AGP

	PDA-u				PDA-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	280	160,6238	71,83314	5	356	135,2036	60,46487	5
0	212	117,1324	52,3832	5	292	105,4514	47,1593	5
1	448	239,8333	107,2567	5	500	203,9608	91,21404	5
2	660	322,4903	144,222	5	628	191,1021	85,46344	5
3	572	299,533	133,9552	5	664	179,6664	80,34924	5
4	516	226,0089	101,0742	5	560	216,7948	96,9536	5
5	448	211,471	94,57272	5	456	139,5708	62,41795	5
6	460	226,7157	101,3903	5	440	128,841	57,61944	5
	PS-u				PS-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	295	140,8309	70,41544	4	446,6667	244,1857	99,68841	6
0	235	98,48858	49,24429	4	316,6667	118,2652	48,28158	6
1	375	135,0309	67,51543	4	410	170,0588	69,42622	6
2	475	66,08076	33,04038	4	546,6667	190,0175	77,57434	6
3	480	48,9898	24,4949	4	656,6667	372,9701	152,2644	6
4	465	55,07571	27,53785	4	476,6667	224,2915	91,56661	6
5	415	71,87953	35,93977	4	443,3333	228,1812	93,15459	6
6	385	59,72158	29,86079	4	456,6667	253,1139	103,3333	6

Albumin

	PDA-u				PDA-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	31,2	3,238827	1,448447	5	33,62	2,9626	1,324915	5
0	26,14	3,312552	1,481418	5	27,9	2,935983	1,313012	5
1	29,04	2,711642	1,212683	5	30,1	2	0,8944274	5
2	31,16	0,3507141	0,1568441	5	32,46	1,497664	0,6697759	5
3	30,78	2,170714	0,9707727	5	31,14	1,884941	0,8429711	5
4	30,04	3,426806	1,532514	5	32,16	1,096813	0,4905099	5
5	29,24	3,081883	1,37826	5	31,64	1,083051	0,4843549	5
6	30,6	1,770592	0,791833	5	31,92	1,306522	0,5842944	5
	PS-u				PS-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n

	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	33,15	2,610875	1,305437	4	31,43333	2,415505	0,9861258	6
0	26,75	3,049043	1,524522	4	25,68333	2,594931	1,059376	6
1	30,375	2,325761	1,16288	4	27,71667	2,304271	0,9407149	6
2	32,325	2,189939	1,09497	4	31,81667	4,919926	2,008551	6
3	33,6	1,298718	0,6493591	4	30,53333	3,379152	1,379533	6
4	34,425	2,697375	1,348688	4	33,06667	5,171331	2,111187	6
5	35,075	1,860778	0,9303891	4	32,56667	4,680883	1,910963	6
6	33,375	1,332604	0,666302	4	31,56667	3,216002	1,312927	6

WBC	PDA-u				PDA-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	12,6	3,568613	1,595932	5	12	4,556314	2,037646	5
0	5,44	1,203329	0,5381449	5	4,98	1,953714	0,8737277	5
1	15,68	2,257653	1,009653	5	15,08	3,993995	1,786169	5
2	11,22	1,772569	0,7927169	5	12,12	2,69481	1,205156	5
3	10,96	2,273324	1,016661	5	9,940001	2,411016	1,078239	5
4	10,16	2,164024	0,967781	5	8,28	2,360508	1,055651	5
5	9,7	1,747856	0,7816649	5	9,94	2,793385	1,24924	5
6	10,72	2,680858	1,198916	5	9,4	2,331309	1,042593	5

	PS-u				PS-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	10,775	1,05	0,5250001	4	11,31667	2,59416	1,059061	6
0	6,775	1,068878	0,534439	4	7,816667	3,275006	1,337016	6
1	18,975	5,204726	2,602363	4	17,18333	7,716065	3,15007	6
2	13,925	2,673793	1,336896	4	15,98333	7,517291	3,068921	6
3	10,75	1,161895	0,5809475	4	12,93333	5,398395	2,203886	6
4	10,75	0,9746796	0,4873398	4	12,18333	4,922364	2,009547	6
5	10,825	1,547848	0,7739239	4	13,6	7,080113	2,890444	6
6	11,325	2,337199	1,1686	4	12,05	5,487349	2,240201	6

Neutrophile	PDA-u				PDA-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	7,748	3,005889	1,344275	5	8,96	3,75076	1,677391	5
0	3,106	1,081957	0,4838656	5	3,386	1,788947	0,8000413	5
1	11,438	1,820733	0,8142567	5	11,85	3,657239	1,635567	5
2	6,422	0,6042929	0,270248	5	8,17	3,164285	1,415111	5
3	5,534	0,5932789	0,2653224	5	6,05	2,014832	0,9010605	5
4	5,558	1,07183	0,479337	5	4,722	2,11827	0,9473193	5
5	5,308	0,4782992	0,2139019	5	6,534	2,734443	1,22288	5

6	5,434	0,9285634	0,4152662	5	6,134	1,785282	0,7984022	5
PS-u				PS-c				
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	6,87	1,230014	0,6150068	4	7,358334	1,599943	0,653174	6
0	4,6825	1,106327	0,5531633	4	5,163333	2,356656	0,9621006	6
1	15,7475	4,686252	2,343126	4	12,94	6,83129	2,788862	6
2	10,0825	2,649432	1,324716	4	10,88167	5,677195	2,317705	6
3	6,89	1,3438	0,6719002	4	8,266666	3,638553	1,485433	6
4	6,29	0,9125423	0,4562711	4	7,251667	3,145838	1,284283	6
5	6,81	1,304991	0,6524953	4	8,43	5,118387	2,089573	6
6	6,945	2,519861	1,25993	4	7,776667	4,026958	1,643999	6

Lymphozyten								
PDA-u				PDA-c				
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	3,646	1,757564	0,7860064	5	1,93	0,6544081	0,2926602	5
0	1,762	0,8289572	0,3707209	5	1,13	0,2871411	0,1284134	5
1	2,904	1,058173	0,4732293	5	1,92	0,9338897	0,4176482	5
2	3,722	1,397898	0,6251592	5	2,648	1,285056	0,5746947	5
3	4,334	1,762521	0,7882233	5	2,862	1,24027	0,5546657	5
4	3,516	1,473679	0,6590494	5	2,428	1,322638	0,5915015	5
5	3,578	1,858755	0,8312604	5	2,174	0,7211311	0,3224996	5
6	4,314	2,210414	0,9885272	5	2,18	0,691267	0,309144	5
PS-u				PS-c				
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	3,1725	0,5135092	0,2567546	4	2,753333	1,601408	0,6537719	6
0	1,64	0,219545	0,1097725	4	2,043333	0,8750695	0,3572456	6
1	2,0875	0,6867981	0,343399	4	2,823333	1,577957	0,6441981	6
2	2,8925	0,6146747	0,3073373	4	3,48	1,633854	0,6670182	6
3	3,215	0,3635473	0,1817737	4	3,371667	1,660788	0,6780139	6
4	3,6525	0,3090173	0,1545086	4	3,566667	1,764558	0,720378	6
5	3,305	0,5777255	0,2888627	4	3,695	1,630126	0,6654961	6
6	3,55	0,5574945	0,2787472	4	2,763333	1,402907	0,5727342	6

Hkt								
PDA-u				PDA-c				
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	0,434	0,04827007	0,02158703	5	0,472	0,0501996	0,02244994	5
0	0,342	0,0438178	0,01959592	5	0,366	0,03361546	0,01503329	5
1	0,354	0,05856621	0,0261916	5	0,406	0,0427785	0,01913112	5
2	0,428	0,04266146	0,01907878	5	0,472	0,04868263	0,02177154	5

3	0,424	0,0598331	0,02675818	5	0,444	0,0444972	0,01989975	5
4	0,436	0,06804411	0,03043025	5	0,514	0,09838699	0,044	5
5	0,43	0,07314371	0,03271086	5	0,468	0,04658326	0,02083267	5
6	0,426	0,04098781	0,01833031	5	0,46	0,03316626	0,0148324	5

	PS-u				PS-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	0,49	0,05033223	0,02516612	4	0,4733333	0,06976149	0,02848001	6
0	0,365	0,02081665	0,01040833	4	0,3616666	0,1072225	0,04377341	6
1	0,3925	0,03403429	0,01701715	4	0,355	0,06220932	0,02539685	6
2	0,43	0,02160246	0,01080123	4	0,435	0,1040673	0,04248529	6
3	0,4725	0,03685556	0,01842778	4	0,4233333	0,09223159	0,03765339	6
4	0,485	0,02516611	0,01258305	4	0,4683333	0,09621157	0,03927821	6
5	0,4425	0,09178779	0,0458939	4	0,46	0,1067708	0,04358899	6
6	0,4525	0,00957428	0,00478714	4	0,4283333	0,07859178	0,03208496	6

Totalprotein	PDA-u				PDA-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	65	11,7286	5,245187	5	66,82	8,645924	3,866575	5
0	49,24	7,311156	3,269648	5	54,16	7,642513	3,417836	5
1	54,56	4,5528	2,036074	5	60,98	6,954639	3,110209	5
2	64,08	2,63287	1,177455	5	72,14	7,152483	3,198687	5
3	69,82	8,629135	3,859066	5	69,54	9,042842	4,044082	5
4	64,04	5,324285	2,381093	5	68,64	5,360317	2,397207	5
5	61,56	4,528576	2,025241	5	73	10,97156	4,906629	5
6	66,24001	7,655914	3,423829	5	67,7	9,719312	4,346608	5

	PS-u				PS-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	60,35	6,983076	3,491538	4	62,58333	8,991199	3,670641	6
0	48,625	4,200298	2,100149	4	46,9	5,294903	2,161635	6
1	55,6	6,220932	3,110466	4	52,43333	3,741479	1,527452	6
2	65,4	10,79846	5,399228	4	68,61667	14,65338	5,982218	6
3	74,05	7,009755	3,504877	4	61,38333	7,66405	3,128835	6
4	65,4	4,4053	2,20265	4	72,08334	14,3243	5,847872	6
5	73,725	16,39052	8,19526	4	68,4	10,67127	4,356527	6
6	68,375	17,73065	8,865324	4	64,56667	7,208236	2,94275	6

Globulin	PDA-u				PDA-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	33,8	8,621775	3,855775	5	33,2	5,854059	2,618015	5

0	23,1	4,186884	1,872431	5	26,26	4,98578	2,229708	5
1	25,52	2,169562	0,9702576	5	30,88	5,502454	2,460772	5
2	32,92	2,435569	1,08922	5	39,68	5,739948	2,566983	5
3	39,04	10,55381	4,719809	5	38,4	7,265673	3,249308	5
4	34	3,943982	1,763803	5	36,48	5,017171	2,243747	5
5	31,94	4,632278	2,071618	5	41,36	10,43638	4,66729	5
6	35,64	7,861488	3,515764	5	35,78	8,488345	3,796103	5

	PS-u				PS-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	27,2	4,925444	2,462722	4	31,15	7,438751	3,036857	6
0	21,875	2,587631	1,293815	4	21,21667	3,601898	1,470469	6
1	25,225	5,34439	2,672195	4	24,71667	3,493088	1,426047	6
2	33,075	10,14277	5,071386	4	36,8	10,15854	4,147208	6
3	40,45	7,339619	3,669809	4	30,85	6,377696	2,603683	6
4	30,975	2,342896	1,171448	4	39,01667	10,49255	4,283567	6
5	38,65	14,82621	7,413107	4	36,15	9,203206	3,757193	6
6	35	17,22169	8,610846	4	33	6,163116	2,516082	6

Temperatur

	PDA-u				PDA-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	38,46	0,2880976	0,1288412	5	38,66	0,4277842	0,1913109	5
0	36,74	1,031018	0,4610851	5	36,8	0,5049743	0,2258314	5
1	38,3	0,2828425	0,126491	5	38,14	0,2509975	0,1122495	5
2	38,46	0,2966475	0,1326648	5	38,28	0,4658328	0,2083268	5
3	38,58	0,1483231	0,06633212	5	38,24	0,4669048	0,2088062	5
4	38,44	0,2302177	0,1029565	5	38,28	0,3962326	0,1772006	5
5	38,58	0,1303838	0,05830942	5	38,32	0,4868272	0,2177158	5
6	38,32	0,3701358	0,1655298	5	38,46	0,3209364	0,1435271	5

	PS-u				PS-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	38,7	0,3162286	0,1581143	4	38,76667	0,1505549	0,0614638	6
0	35,275	0,5315076	0,2657538	4	36,96667	0,6653315	0,2716205	6
1	38,225	0,2499992	0,1249996	4	38,35	0,6220932	0,2539685	6
2	38,475	0,2217351	0,1108675	4	38,33333	0,2732528	0,111555	6
3	38,25	0,3000011	0,1500006	4	38,41667	0,1169042	0,04772592	6
4	38,325	0,2753779	0,1376889	4	38,28333	0,1940797	0,07923269	6
5	38,25	0,4041444	0,2020722	4	38,35	0,3834051	0,1565245	6
6	38,475	0,1258304	0,06291521	4	38,33333	0,4082487	0,1666668	6

Puls	PDA_u				PDA-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	121,6	30,27871	13,54105	5	98	14,96663	6,69328	5
0	92,8	13,82751	6,18385	5	80,6	5,85662	2,61916	5
1	106	22,75961	10,17841	5	81,6	2,19089	0,9797959	5
2	96	17,20465	7,694154	5	76	10,583	4,732864	5
3	108	22,09072	9,879271	5	76	9,380832	4,195235	5
4	96,8	14,8054	6,621178	5	81,2	14,93988	6,681317	5
5	99,8	24,984	11,17318	5	91,2	10,35374	4,630335	5
6	93,6	19,09974	8,541662	5	82,8	17,97776	8,039901	5
	PS-u				PS-c			
	MEAN	SD	SEM	n	MEAN	SD	SEM	n
-1	116,5	7	3,5	4	104	19,59592	8	6
0	85	10,3923	5,196152	4	83,5	9,894443	4,039389	6
1	97,5	9,983319	4,99166	4	104	26,533	10,83205	6
2	97	8,869423	4,434711	4	90,33334	19,85615	8,106239	6
3	100	0	0	4	100	24,52754	10,01332	6
4	108	13,46601	6,733003	4	93,33334	17,82882	7,278584	6
5	103	18,58315	9,291574	4	100,6667	24,32009	9,928634	6
6	100	8,640987	4,320494	4	94	18,1989	7,42967	6

9 DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen herzlich bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Moritz, der mit der Überlassung dieses interessanten Themas, diese Dissertation ermöglicht hat. Ich danke auch für die fachliche Unterstützung und die wertvollen Hinweise bei der Anfertigung dieser Arbeit. Ich danke weiterhin für die didaktisch hervorragenden und sehr interessanten Vorlesungen, die während der Studienzeit mein Interesse für die Innere Medizin geweckt haben und ohne die ich vielleicht nicht zur Internistik gekommen wäre.

Ebenso gilt mein Dank Frau Prof. Dr. Bauer für die Hilfe bei der Erstellung dieser Arbeit, insbesondere der Statistik. Ich hab mich stets kompetent betreut gefühlt.

Ich danke Frau Dr. Stefanie Klenner für die Einarbeitung in dieses Thema und ihre herzliche Art, mit der sie mich sehr unterstützt hat.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Schneider und seiner gesamten Arbeitsgruppe Kardiologie bedanken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ein herzlicher Dank geht auch an die Mitarbeiter des Zentrallabors für die Durchführung der hämatologischen und klinisch chemischen Untersuchungen. Mein besonderer Dank gebührt Frau Sabine Zielinsky, die mehr als einmal auch ihr Wochenende zum Gelingen dieser Arbeit geopfert hat.

Besten Dank gebührt Herrn Andreas Schaubmar für seine unkomplizierte, kompetente und schnelle Hilfe bei meiner Statistik.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei meinen ehemaligen Ausbildern, vor allem Herrn Prof. Reto Neiger, Dr. Christine Simon und Dr. Christina Schwens, für die Weitergabe ihres Wissens, die Geduld und die fachliche wie zwischenmenschliche Kompetenz bedanken.

Ich bedanke mich auch bei meinen ehemaligen Kollegen. Hier vor allem Pavel Orlov für die gute Zusammenarbeit im Rahmen der Blutentnahmen dieser Doktorarbeit und allen anderen, vor allem Caro, Eva, Andi, Anna und Elif, die mir gezeigt haben, dass aus Kollegen Freunde werden und die meinen Arbeitsalltag täglich bereichern haben.

Mein herzlichster Dank gebührt weiterhin meinen Freundinnen. Ich danke Euch für eure permanente Unterstützung nicht nur in Bezug auf diese Arbeit, die stets offenen Ohren und die Fröhlichkeit, die ihr mit euch bringt. Jessica, Du bist nicht nur die beste Korrekturleserin, die man sich vorstellen kann, sondern und vor allem auch einer der wichtigsten Menschen in meinem Leben. Toni, ohne dich wäre ich nicht, wer ich bin und ich danke Dir für über 10 Jahre Borussia Contenance.

Weiterhin bedanke ich mich bei meiner Sonne Günes, die mir jeden Tag verschönert.

Danke Michael, nicht zuletzt für das geduldige und kompetente Korrekturlesen und die Hilfe bei der Formatierung. Ich bedanke mich auch dafür, dass Du für den letzten Motivationsschub gesorgt hast und vor allem dafür, dass Du mir täglich zeigst, was wirklich wichtig ist im Leben. Danke, dass Du so bist wie du bist, nämlich ein ganz wunderbarer und wertvoller Mensch.

Abschließend danke ich meinen Eltern, ohne die diese Arbeit mit Sicherheit nicht entstanden wäre. Ich bin sehr dankbar, dass Ihr mir meine Ausbildung ermöglicht habt, aber vor allem für Euren Rückhalt in allen Lebenslagen und Eure bedingungslose Liebe, bei der ein Dokortitel völlig irrelevant ist. Ich kann mir keine besseren Eltern vorstellen.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6508-9



9 17 8 3 8 3 5 11 9 6 5 0 8 9 1